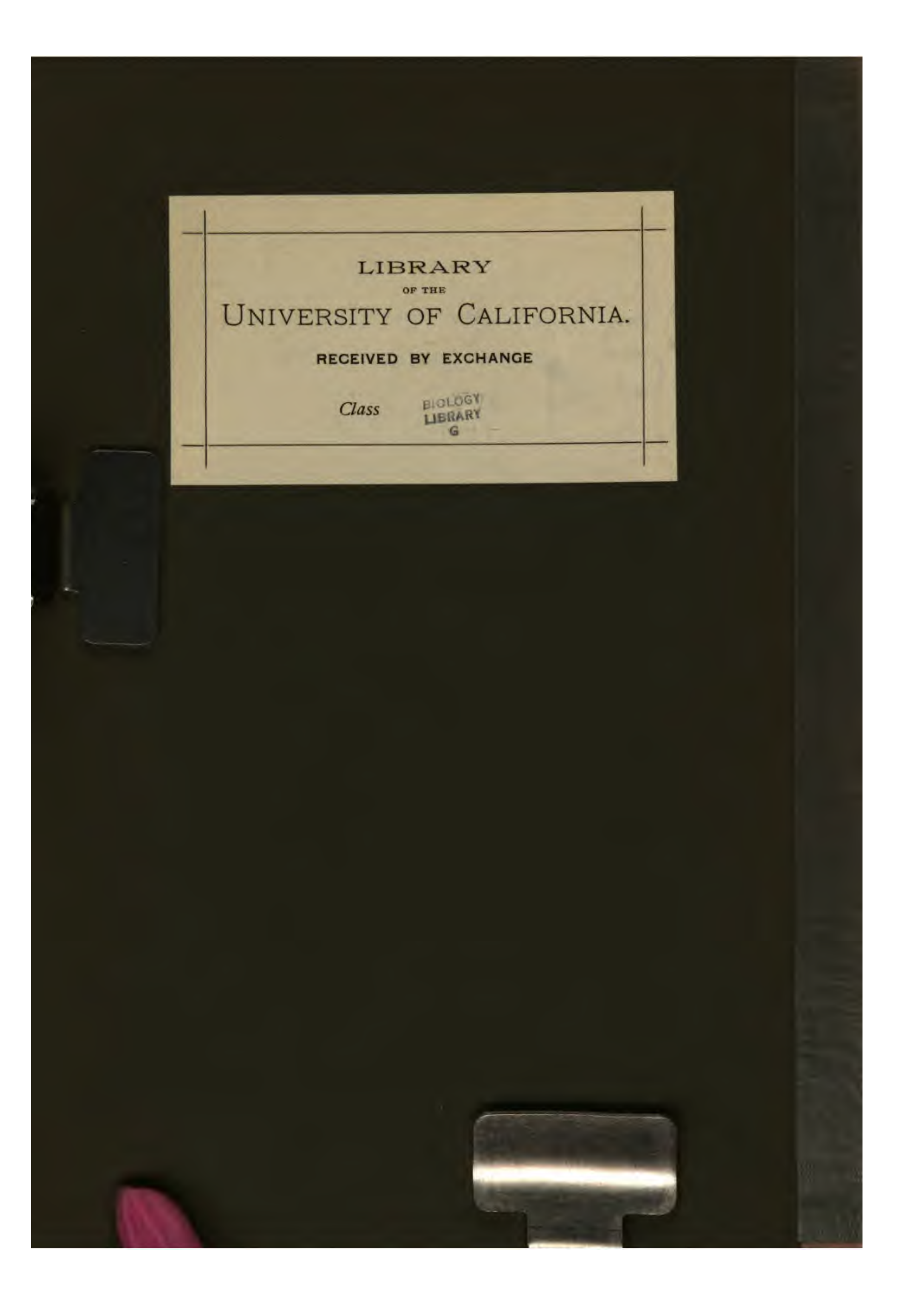

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF CALIFORNIA.
RECEIVED BY EXCHANGE
Class
BIOLOGY
LIBRARY
G

Über das Wachstum und die Lebenstätigkeit von Bakterien sowie den Ablauf fermentativer Prozesse bei niederer Temperatur unter spezieller Berücksichtigung des Fleisches als Nahrungsmittel.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der vereinigten medizinischen Fakultät

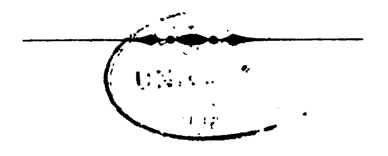
an der

hessischen Ludwigs-Universität Gießen

vorgelegt von

Max Müller

approb. Tierarzt aus Straßburg i. E.



München.

Druck von R. Oldenbourg.

1903.

Gedruckt mit Genehmigung der vereinigten medizinischen Fakultät zu Gieſsen.

Referent: Professor Dr. Olt.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

(Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Strafsburg.)

Die vorliegende Arbeit verdankt ihre Entstehung dem mir von Herrn Professor Forster erteilten Auftrage, einen ätiologischen Beitrag für die bei 0° erfolgenden Zersetzungsprozesse animaler Nahrungsmittel vom hygienischen Standpunkte aus zu erbringen.

Es soll also in den folgenden Ausführungen nicht die Biochemie der Zersetzungsprozesse eine eingehende Erörterung erfahren, sondern es soll hier der gegenwärtigen wissenschaftlichen Erfahrung gemäfs entschieden werden, welcher Art diese bei niederer Temperatur erfolgenden Zersetzungsprozesse sind, um hiernach gegebenen Falls weitere hygienische Mafsregeln vorschlagen zu können.

Nach dem zeitigen Standpunkte der Erkenntnis über das Wesen der Zersetzungsprozesse kommen zwei causale Momente in Betracht:

1. Die Zersetzungsprozesse durch die Tätigkeit der Bakterien,
2. die Zersetzungsprozesse durch die Wirksamkeit der tierischen Fermente.

Da jedoch das Wachstum und die Lebenstätigkeit der Bakterien bei 0° bis jetzt keine eingehenden Untersuchungen gefunden haben, so mufsten zunächst diese Fragen im Anschlufs an die früheren Befunde Prof. Forsters eine gewisse Erledigung finden.

Demgemäfs setzt sich die vorliegende Arbeit aus den folgenden Untersuchungen zusammen:

I. Wachstum der Bakterien bei 0°.
   a) Literaturreferat.
   b) Züchtung der bei 0° wachsenden Bakterien.
   c) Kulturelle Eigenschaften einiger dieser Bakterien.

II. Vergleichung der Vermehrungsintensität dieser Bakterien bei 0° und höheren Temperaturen, demonstriert durch die Anzahl der jeweiligen lebenden Bakterien und die Bestimmung ihrer Generationsdauer.
   a) Methodik der Generationsdauerbestimmung.
   b) Generationsdauertabellen.
   c) Beobachtungen über Anpassungserscheinungen der Bakterien beim Überimpfen.
   d) Verhalten der bei 0° wachsenden Bakterien bei Temperaturen unter Null.

III. Nachweise über das Zersetzungsvermögen einiger Bakterien in eiweifshaltigem Materiale bei 0° und 25° durch NH_3-, CO_2- und H_2S-Bestimmungen.

IV. Ablauf fermentativer Prozesse bei 0°, verglichen mit höheren Temperaturen.
   a) Versuche mit Pepsin, Trypsin, Diastase und Lab.
   b) Autolyse-Reifungsprozefs des Fleisches.

V. Schlufsfolgerungen bezüglich der Fleischhygiene.



I.

a) Die Vermehrungsfähigkeit gewisser Bakterien bei 0° wurde zuerst von Prof. Forster[1])*) beobachtet. Derselbe zeigte in der Sitzung der Niederländischen Akademie im Juni 1887 Reinkulturen von lichtproduzierenden, an Seefischen gefundenen Bakterien, welche gleichzeitig die Fähigkeit besafsen, sich noch bei 0° zu vermehren. Durch diese interessante Beobachtung veranlafst, prüfte Prof. Forster[2]) die Frage über das Vorkommen bei 0° wachsender Bakterien näher und fand, dafs dieselben nicht nur im Meerwasser sondern auch im Süfswasser und sonstigen Materialien (Milch, Fleisch, Erde etc.) anzutreffen waren. Das Resultat dieser Untersuchungen wurde dahin zusammengefafst, dafs

1. nur wenige Bakteriensorten aufgefunden wurden, welche bei 0° zu wachsen vermögen;

2. dafs jedoch von diesen Sorten häufig zahlreiche Individuen in unserer täglichen Umgebung sowie auf Nahrungsmitteln vorkommen.

So wurden z. B. folgende Zahlen in Materialien gefunden, welche bei 0° aufbewahrt worden waren:

In 1 ccm Kanalwasser bis 2000;
in 1 ccm Tümpelwasser unzählbare Massen;
in 1 ccm Handelsmilch bis 1000;
in 1 g Gartenerde bis 140000.

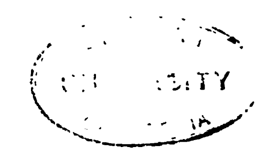
*) s. das Literaturverzeichnis am Schlusse.

Diese Befunde hatten durch Prof. Forsters Mitarbeiter Bleekrode noch weiterhin eine Bearbeitung speziell unter Berücksichtigung der Nahrungsmittel gefunden, indes konnten die Resultate dieser Untersuchungen eingetretener Umstände halber nicht veröffentlicht werden.

Sodann hat Fischer[3]), durch den Befund Prof. Forsters veranlafst, gleichfalls Untersuchungen über das Wachstum der Bakterien bei 0° angestellt und hierbei aus Wasser und Erde des Kieler Hafens 14 verschiedene, bei 0° wachsende Bakterien isoliert, deren kulturelle Eigenschaften jedoch nicht veröffentlicht worden sind.

Die weiteren Literaturangaben beschränken sich nur auf kurze Mitteilungen:

So bestätigt Havemann[4]) den Befund über das Vorkommen bei 0° wachsender Bakterien im Sielwasser und den oberen Erdschichten. — Glage[5]) macht auf die Wachstumsfähigkeit der Bakterien, welche in den Kühlräumen auf dem Fleische parasitieren, bei 0° aufmerksam. — Schmidt-Nielsen[6]), welcher im hiesigen Institute eine Anzahl bekannter Bakterienarten auf ihre Vermehrungsfähigkeit bei 0° prüfte, fand bei fünf Bakterien der Strafsburger Wasserleitung (Bacterium fluorescens non liquefaciens; B. granulosum; B. paracoli gasoformans anindolicum; B. radiatum; B. tarde fluorescens) in 10 bis 40 Tagen deutliches und bei einigen Actinomyceten in 80 Tagen schwaches Wachstum. Schmelk[7]) berichtet über das ständige Vorkommen des Bacillus fluorescens liquefaciens im Eiswasser der norwegischen Gletscher und glaubt die eigenartig grüne Färbung des Gletscherwassers in Zusammenhang mit dem Vorkommen dieses Bacteriums bringen zu können. — Prof. Forster (mündliche Mitteilung) hat dann weiterhin die eigentümliche Tatsache konstatiert, dafs auch der Pestbacillus, dieser fast ausschliefslich in tropischen Gegenden stationäre Krankheitserreger, gleichfalls bei 0° zu wachsen vermag. — Conradi und Vogt[8]) sowie B. Fischer[9]) haben die gleiche Eigenschaft bei weiteren pathogenen Mikrobien beobachtet; erstere bei dem Bacillus proteus fluorescens, letzterer bei einem geschwürbildenden Commabacillus.



Dafs die Wachstumsfähigkeit von Bakterien bei 0° eine spezifische Eigenart bestimmter Bakterien ist, welche auch durch allmähliche Anpassung an niedere Temperaturverhältnisse nicht zu erreichen ist, ergibt sich aus Versuchen von W. Brehme[10]) und A. Dieudonné.[11]) Ersterer versuchte im hiesigen Institute durch wiederholtes Gefrieren und Auftauenlassen der Kulturen von Vibrio cholerae und Bacterium typhi eine gegen niedere Temperaturen resistente Generation dieser Bakterien heranzuzüchten, erzielte jedoch einen völlig negativen Erfolg. Letzterer suchte durch sukzessives Herabsetzen der Temperatur von 0,5 zu 0,5 Grad den Milzbrandbacillus nach einer gröfseren Anzahl von Generationen allmählich an niedere Temperaturen zu gewöhnen und konnte auf diese Weise die untere Wachstumsgrenze bis auf + 10° C. herabdrücken, während weitere Versuche bei noch niederer Temperatur mifslangen. Da nach den Untersuchungen Weils[12]) im hiesigen Institute die untere Wachstumsgrenze für den Milzbrandbacillus an und für sich schon + 12° beträgt, so mufs die von Dieudonné erzielte Anpassungsfähigkeit des Milzbrandbacillus an niedere Temperaturen als eine minimale bezeichnet werden.

b) Um die bei 0° wachsenden Bakterien züchten zu können, bedarf es zunächst eines Raumes, in welchem die zu untersuchenden Materialien und die zu prüfenden Kulturen einer ständigen Temperatur von 0° ausgesetzt sind. Das hiesige Institut besitzt einen zu diesem Zwecke angefertigten Eiskalorimeter, dessen Konstruktion aus dem schematischen Durchschnitt (s. Fig. 1 auf folgender Seite) ersichtlich ist, und in dessen Aufbewahrungsraume *b* die Temperatur konstant 0° beträgt. Der Kalorimeter besteht aus einem innen mit Kupfer ausgekleideten Holzbottich, in welchem zwei gleichfalls mit Deckel versehene verschieden grofse Kupferbüchsen konzentrisch eingeschaltet sind. Die gröfsere Büchse läuft nach unten trichterförmig zu und enthält an der Ansatzstelle des trichterförmigen Teiles ein Kupferkreuz, auf welchem die kleinste, als Aufbewahrungsraum dienende Büchse *b* ruht. Der Bottich und die gröfsere Büchse *a* werden

ständig mit Eis angefüllt erhalten. Bei Aufstellung dieses Kalorimeters an einem kühlen Orte genügt es, das geschmolzene Eis des Bottichs in warmen Jahreszeiten alle 24 Stunden, — in kälteren alle 2 bis 3 Tage zu ersetzen. Bereits in der Büchse *a* erfolgt das Schmelzen des Eises in so geringer Weise, dafs hier meist nur alle 2 bis 3 Wochen ein geringes Nachfüllen zu erfolgen hat. Das Schmelzwasser fliefst durch eine im Boden des

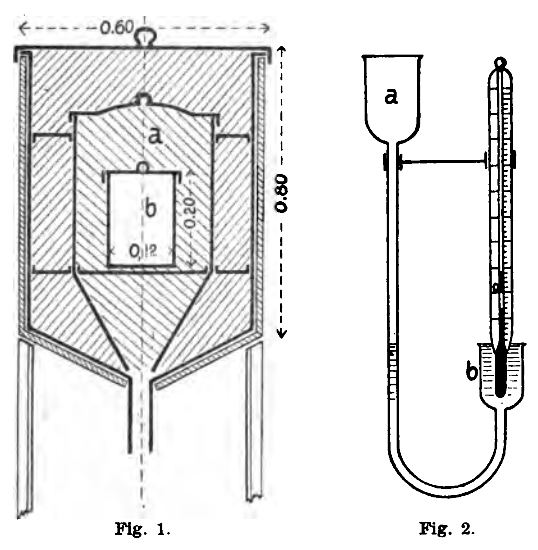


Fig. 1. Fig. 2.

Bottichs befindliche und unter Wasserverschlufs endigende Öffnung ab. Die Prüfung der Temperatur in der als Züchtungsraum dienenden Büchse *b* erfolgte mittels eines von Prof. Forster konstruierten Maximumthermometers. Dieser in Fig. 2 veranschaulichte Thermometer mit abgebrochener Quecksilbersäule wurde in der Weise benutzt, dafs der Index durch eine in *b* eingefüllte Kältemischung zunächst unter 0° gestellt wurde, worauf der Thermometer sofort dem Kalorimeter übergeben wurde. Nach längerem Verweilen nimmt dann die Kältemischung allmählich die hier herrschende Temperatur an, welche durch den Stand des Indexes angegeben wird. Um nun durch das Hinausheben des Thermometers den im Kalorimeter erreichten höchsten Stand des Indexes nicht zu verändern, wird sofort nach dem Öffnen des Aufbewahrungsraumes eine frisch bereitete Kochsalzeislösung

in den Trichter *a* gegossen, wodurch die Quecksilbersäule wieder stark verkürzt wird, während der abgebrochene Faden stehen bleibt; nach dem Herausnehmen ist nun ein bequemes und genaues Ablesen ermöglicht. Die so erfolgte Prüfung der Temperatur im Aufbewahrungsraume ergab stets genau Null Grad.

Das Züchten der bei 0° wachsenden Bakterien wurde auf folgende Weise vorgenommen:

In ein Reagensröhrchen mit Löfflerscher Bouillon wird eine geringe Menge des zu untersuchenden Materiales — gleichgültig ob fest oder flüssig — gebracht und das Röhrchen sofort dem Kalorimeter übergeben. Falls die Bouillon durch das Material keine Trübung erfährt, wird man nach durchschnittlich acht Tagen eine deutliche Bakterientrübung und nach weiteren acht bis vierzehn Tagen eine Bakteriensedimentierung am Boden des Glases bemerken können. Um aus diesem Bakteriengemische diejenigen zu gewinnen, welche sich bei 0° am schnellsten vermehren, kann man von Zeit zu Zeit eine gewisse Menge der trüben Bouillon in ein frisches Röhrchen überimpfen. Dieses Überimpfen auf frische Bouillon nach einer gewissen Zeit empfiehlt sich besonders in denjenigen Fällen, in welchen die Stammbouillon bereits durch die eingebrachten Materialien eine solche Trübung erfahren hat, dafs das Wachstum von Bakterien nicht erkannt werden kann. Die verschiedenen in dieser Bouillon enthaltenen Bakteriensorten sind durch das Kochsche Plattenverfahren leicht in Reinkulturen zu erhalten und können sodann einer genauen Prüfung auf ihre kulturellen Eigenschaften unterzogen werden.

Das Züchten obligater Anaerobier stöfst wegen der beschränkten Raumverhältnisse des Kalorimeters auf gewisse Schwierigkeiten, infolgedessen konnte ihre Gewinnung nur durch das Verfahren mit hoher Gelatine- und Agarschicht versucht werden.

Nach 3 bis 4 Wochen kann man in diesen Kulturen eine mehr oder minder grofse Anzahl von Kolonien, die zum Teil Gasbildung zeigen, deutlich erkennen. Die weitere Prüfung zahlreicher dieser Kolonien mittels des tiefen Stiches ergab jedoch, dafs immer nur fakultative Anaerobier gewachsen waren.

An Materialien wurden untersucht: Hackfleisch: Fischfleisch; Darminhalt vom Fische; Milch; Gemüse; Mehl; Gartenerde und jauchige Erde.

Um das Vorhandensein von Mikroorganismen, welche bei 0° wachsen, auch in der Luft nachzuweisen, wurde eine Petrische Schale mit erstarrter Gelatine 6 Stunden lang offen im Zimmer stehen gelassen, sodann geschlossen und in den Kalorimeter verbracht. Nach fünf Wochen wurden die ersten Kolonien erkennbar.

Aus diesen Materialien wurden, ohne dieselben zu erschöpfen, 36 Bakteriensorten in Reinkultur gezüchtet und kulturell näher bestimmt. Von diesen Bakterien entfallen auf die einzelnen Materialien: Fleisch 10; Fisch 4; Milch 4; Mehl 2; Gemüse 4; Erde 9 und Luft 3 verschiedene Arten.

Die Identifizierung dieser Mikroorganismen wurde nach der bakteriologischen Diagnostik von Migula versucht, indessen erwiesen sich die meisten als bisher noch nicht beschrieben.

c) Von bekannten Bakterien wurden gefunden:

1. Bacillus fluorescens liquefaciens in 4 verschiedenen Stämmen:

Stamm a) Gelatine sehr schnell verflüssigend im Fischfleisch
» b) » weniger » » » Hackfleisch
» c) » langsam » in der Milch.

a, b und c verflüssigen das erstarrte Blutserum.

Stamm d) Gelatine langsam, Blutserum nicht verflüssigend im Gemüse.

2. Bacillus fluorescens non liquefaciens in der Milch.

3. Mikrococcus flavus tardigradus } in der Luft.
4. » carneus }

Die Aufstellung einer besonderen Nomenklatur für die nicht beschriebenen Arten schien uns in Anbetracht des Umstandes, dafs sich die Zahl dieser Bakterien vermutlich noch weiter vermehren läfst, hier nicht erforderlich. Da die kulturellen Eigenschaften ein rein bakteriologisches Interesse besitzen, so nehme ich von einer Veröffentlichung derselben an dieser Stelle Abstand

und lasse nur diejenigen folgen, welche eine nähere eingehende Untersuchung über ihre Vermehrungsintensität und Zersetzungsfähigkeit gefunden haben:

Bacterium A.

Fundort:	Darminhalt des Aales.
Form u. Gröfse:	Schlanke Stäbchen mit geraden Enden; häufig in Diploformen auftretend. 1—2 μ lang; 0,2—0,3 μ breit;
Beweglichkeit:	Sehr lebhaft. Selbst bei 60facher Vergröfserung erkennt man in den flachverflüssigten Kolonien eine deutliche randwärts gerichtete Strömung als Ausdruck der Bewegung.
Sporen:	Nicht nachweisbar.
Gramfärbung:	Negativ.
Temperaturen:	0°—30°; bei 37° äufserst kümmerliches Wachstum. Optimum 20—25°. Gelatinestrich zeigt bei 0° nach 3 Tagen deutliches Wachstum und nach 16 Tagen Verflüssigung der Gelatine.
Sauerstoffbedürfnis:	Aerob und fakultativ anaerob.
Gelatine:	Wird verflüfsigt. Das Verflüssigungsvermögen zeigt eine ausgesprochene Tiefenwirkung.
	Platte: Anfangs grauweifse, rundliche Kolonien, welche bei 60facher Vergröfserung ein braunes Zentrum erkennen lassen. Nach 24—30 Stunden verlieren die Kolonien ihre Struktur, sinken in die Gelatine ein und verflüssigen dieselbe lochförmig. Die Kolonien zeigen alsdann von der Oberfläche betrachtet, eine graue Farbe; von der Glasseite aus einen schönen goldgelben Glanz. 60fach vergröfsert sind die Kolonien rundlich geformt und besitzen einen schwach gezähnten Rand. Die Randpartien reflektieren das Licht sehr stark, erscheinen infolgedessen fast schwarz, während das Zentrum goldgelb durchleuchtet wird. Die punktförmigen tiefen Kolonien sind 60fach vergröfsert: rundlich, glattrandig und von brauner Farbe. — An den nur mit einer dünnen Gelatineschicht bedeckten Stellen erscheinen die Kolonien hellgrau durchscheinend, die Gelatine flächenförmig verflüssigend.
	Strich: Schmaler grauweifser Belag, welcher innerhalb zweier Tage die Gelatine tief rinnenförmig verflüssigt.
	Stich: Anfangs durchscheinendes Wachstum. An der Oberfläche setzt eine lochartige Verflüssigung ein, welche bis zur Kuppe des Glases fortschreitet.
Bouillon:	Diffuse Trübung; Bildung eines geringen, späterhin rosafarbigen Niederschlages.

Agar:	Platte: Runde, blaugrün durchscheinende Kolonien von 3 bis 5 mm Durchmesser. 60 fach vergröfsert: hellgelb durchscheinend und von flockiger Struktur. Die anfangs grauweifsen, späterhin hellbraunen runden tiefen Kolonien sind bei 60 facher Vergröfserung kreisrund und anfangs hellgelb, späterhin braun durchscheinend. Strich: Anfangs flacher glänzender grauer Belag, nach 3—4 Tagen hellbraun, nach ca. 7 Tagen schwach rosafarbig.
Blutserum:	Rosafarbiger Belag, welcher das Serum anfangs rinnenförmig und schliefslich vollständig verflüssigt.
Kartoffel:	Fleischfarbiger, dünner glänzender Belag.
Milch:	Wird langsam ohne vorherige Gerinnung peptonisiert.
Säurebildung: Gärung:	} erfolgen nicht in Traubenzuckerbouillon.
Indolbildung:	Positiv in alten Bouillonkulturen.
Farbstoffbildung:	Auf Agar und Serum rosafarbiger, auf Kartoffel fleischfarbiger Belag.
Besondere Eigenschaften:	Das Bakterium bildet in intensiver Weise Schwefelwasserstoff. In frisch geimpfter Bouillon ist bereits nach 24 Stunden eine deutliche Schwärzung des im Kulturröhrchen hängenden Bleipapieres zu konstatieren.

Bacterium B.

Fundort:	Jauchige Erde.
Form u. Gröfse:	Stäbchen mit abgerundeten Enden; 1—1,5 zuweilen bis 2,5 μ lang, 0,3—0,4 μ breit. Diploformen häufig, zuweilen Ketten bis zu 30 Gliedern.
Beweglichkeit:	Sehr lebhaft.
Sporen:	Nicht nachweisbar.
Gramfärbung:	Negativ.
Temperaturen:	0°—30°; bei 37° kein Wachstum; Optimum ca. 30°.
Wachstumsschnelligkeit:	Erfolgt schnell; bei 0° zeigt der Gelatinestrich nach 3 Tagen deutliches Wachstum und nach 6 Tagen beginnende Verflüssigung.
Sauerstoffbedürfnis:	Obligat aerob.
Gelatine:	Wird rasch verflüssigt. Platte: Bereits nach 14 Stunden deutlich sichtbare grau durchscheinende rundliche Kolonien, welche die Gelatine schnell tellerförmig verflüssigen. 60 fach vergröfsert erscheinen die Kolonien infolge starker Reflexion des Lichtes grauschwarz glänzend. Im Zentrum bemerkt man eine grobe, nach der Peripherie zu feiner werdende Körnung.

	Die punktförmigen tiefen, bläulich durchscheinenden Kolonien sind 60fach vergröfsert, von hellgelber Farbe und reflektieren das Licht gleichfalls, besonders in der Randzone sehr stark.
	Strich: Zeigt bereits nach 4 Stunden eine beginnende Verflüssigung.
	Stich: Innerhalb 24 Stunden intensive trichterförmige Verflüssigung.
Bouillon:	Trübt sich schnell diffus unter Bildung eines reichlichen Bodensatzes und eines festen grauen Oberflächenhäutchens.
Agar:	Platte: Nach 24 Stunden runde, flache, farblose, bläulich irisierende Kolonien. Nach ca. 48 Stunden beginnt der Rand sich wallförmig aufzuwerfen; die flache zentrale Partie nimmt allmählich eine deutlich granulierte Oberfläche an. Bei 60facher Vergröfserung zeigt die Randzone eine gleichmäfsig hellbraune Färbung. Die zentrale Partie ist gleichfalls von hellbrauner Färbung, reflektiert jedoch infolge der unebenen Oberfläche das Licht aufserordentlich verschieden. Das Bild ähnelt infolgedessen ganz auffallend einem in Schwefelsäure getauchten Stücke Zinkblech.
Blutserum:	Anfangs schmutzig gelber, späterhin schmutzig rosafarbiger Belag, welcher das Blutserum allmählich vollständig verflüssigt.
Kartoffel:	Farbloser, schmieriger, glänzender Belag.
Milch:	Wird ohne vorhergehende Gerinnung peptonisiert.
Säurebildung:	Erfolgt } in Traubenzuckerbouillon.
Gärung:	Erfolgt nicht } in Traubenzuckerbouillon.
Indolbildung:	Negativ.
Fluoreszenzerscheinung:	Die Agar-, Gelatine- und Bouillon-Kulturen zeigen bei höheren Temperaturen wie auch bei 0° eine dunkelgrüne Fluoreszenz.

Bacterium C.

Fundort:	Hackfleisch.
Form u. Gröfse:	1—1,5 μ lange, 0,5—0,75 μ breite Stäbchen mit abgerundeten Enden. Diploanordnungen häufig; Kettenverbände bis zu 8 Gliedern in jungen Kulturen beobachtet.
Beweglichkeit:	Nicht vorhanden.
Sporen:	Nicht nachweisbar.
Gramfärbung:	Negativ.
Temperaturen:	0°—37°; Optimum ca. 30°.
Wachstumsschnelligkeit:	Bei höheren Temperaturen schnell; Gelatinestrich zeigt bei 0° nach 6 Tagen deutliches Wachstum; eine Verflüssigung der Gelatine beginnt nach ca. 20 Tagen.



Sauerstoff-bedürfnis:	Aerob und anaerob; in letzterem Falle findet Gasbildung statt.
Gelatine:	Wird schnell verflüssigt.
	Platte: Zeigt bei 25° grauweifse, die Gelatine schnell verflüssigende Kolonien. Bei 10° gewachsen erscheinen die Kolonien als flache grauweifse blattartige Kolonien mit einer fast farblosen feingekerbten Randzone. Die Oberfläche ist glänzend und etwas uneben; im durchfallenden Lichte bemerkt man eine lebhafte bläuliche Fluoreszenz. Bei 60facher Vergröfserung erscheinen die Kolonien von hellbrauner, nach dem Rande zu an Intensität abnehmender Farbe und lassen eine deutliche feine Granulation erkennen. Die grauweifsen hirsekorngrofsen tiefen Kolonien sind bei 60facher Vergröfserung von tiefbrauner Farbe und von runder oder ovaler Gestalt.
	Strich: Weifslicher, die Gelatine schnell verflüssigender Belag.
	Stich: Zeigt bereits nach 24 Stunden eine bis zur Kuppe reichende trichterförmige Verflüssigung.
Agar:	Platte: Glänzende, weifse, halbkugelige, bei 60facher Vergröfserung bräunliche, ganzrandige, feingranulierte Kolonien. Die kleinen scheibenförmigen tiefen Kolonien sind 60fach vergröfsert, von hellbrauner Färbung.
	Strich: Üppiger, dicker, speckigglänzender, weifser Belag, welcher nach 8—10 Tagen eine glasige Beschaffenheit annimmt.
Bouillon:	Stark diffuse Trübung. Häutchenbildung an der Oberfläche, sowie Bildung eines reichlichen lockenförmig aufwirbelnden Bodensatzes.
Blutserum:	Dünner weifslicher Belag, welcher allmählich das ganze Serum verflüssigt.
Kartoffel:	Weifser schmieriger. glasglänzender Belag.
Milch:	Wird schnell koaguliert.
Säurebildung: Gärung:	Erfolgen in Traubenzuckerbouillon; bei 0° nach 14 Tagen Gärung bemerkbar.
Indolbildung:	Negativ.
Besondere Eigenschaften:	Die verflüssigten Gelatinekulturen, sowie die Bouillonkulturen zeigen nach einigen Tagen einen käseartig stinkenden Geruch.

Bacterium D.

Fundort:	Hackfleisch.
Form u. Gröfse:	1—1,5 μ lange, 0,5—0,75 μ breite Stäbchen mit abgerundeten Enden, welche häufig zu Diplostäbchen, zuweilen auch zu kurzen Ketten bis zu 5 Gliedern vereinigt sind.

Beweglichkeit:	Ist eine sehr lebhafte. Auch der hängende Tropfen aus einer bei 0° gewachsenen Bouillonkultur läfst bei einer Witterungstemperatur von — 2° C. deutliche Beweglichkeit erkennen.
Sporen:	Nicht nachweisbar.
Gramfärbung:	Negativ.
Temperaturen:	0°—30°; bei 37° kein Wachstum; Optimum ca. 25°.
Wachstumsschnelligkeit:	Wächst schnell; bei 0° zeigt der Gelatinestrich nach 2 Tagen deutliches Wachstum.
Sauerstoffbedürfnis:	Aerob.
Gelatine:	Wird nicht verflüssigt.
	Platte: Unregelmäfsige, blattförmige, grauweifs durchscheinende, im durchfallenden Lichte lebhaft bläulich irisierende Kolonien bis zu 1 cm Durchmesser. Bei 60 facher Vergröfserung zeigen die Kolonien eine im Zentrum hellbraune Färbung, welche nach der Peripherie zu an Intensität abnimmt. Häufig ziehen vom Zentrum aus haarlockenähnliche Linien nach dem Rande zu. Der Rand ist unregelmäfsig lappig. Die gelblichen bis hirsekorngrofsen tiefen Kolonien erscheinen bei 60 facher Vergröfserung als kreisrunde Gebilde von tiefbrauner Farbe.
	Strich: Flacher, glänzender, weifser Belag mit klein gelappten Rändern.
	Stich: Schwach entwickelter durchscheinender Stich nebst rundlichem weifsen Oberflächenbelag.
Bouillon:	Diffuse Trübung nebst flockig aufwirbelndem Bodensatz.
Agar:	Platte: Rundliche glänzende weifse Kolonien, welche 60 fach vergröfsert von hellbrauner Farbe und fein granuliert erscheinen. Die kleinscheibenförmigen tiefen Kolonien irisieren schwach bläulich und zeigen mikroskopisch gleichfalls eine hellbraune Färbung.
	Strich: Breiter, weifser, glänzender Belag.
Blutserum:	Dünner, farbloser, glänzender Belag.
Kartoffel:	Dicker, glänzender, schmutziggelber Belag.
Milch:	Wird nicht verändert.
Säurebildung:	Erfolgt } in Traubenzuckerbouillon.
Gärung:	Erfolgt nicht } in Traubenzuckerbouillon.
Indolbildung:	Negativ.

Aufser den Bakterien wurden folgende Mikroorganismen beobachtet, welche bei einer Temperatur von 0° noch zu wachsen im stande sind:

1. Mucor (Mucor mucedo?). Fundort: Luft.
2. Penicillium (Penicillium glaucum?). Fundort: Luft.

3. Oidium. Fundort: Mehl.
4. Blastomycet. Fundort: Milch.

Die Untersuchungen über das Vorkommen und die kulturellen Eigenschaften der bei 0° wachsenden Bakterien gestatten weiterhin folgende Schlufsfolgerungen:

1. Die bei 0° wachsenden Bakterien finden sich ubiquitär in zahlreichen Arten vertreten.
2. Das Optimum für dieselben liegt nicht unter 20° C.
3. Bei 37° zeigen die meisten derselben entweder gar kein oder nur ein sehr kümmerliches Wachstum.
4. Die kulturellen Lebensäufserungen sind bei 0° die gleichen wie bei höherer Temperatur, erfolgen jedoch mit verminderter Intensität.

In der Literatur sind die bei 0° wachsenden Bakterien als »psychrophile« oder »rhigophile« bezeichnet worden — eine Benennung, die nicht korrekt ist. Von einer kälteliebenden Eigenschaft dieser Bakterien kann ihrem ganzen kulturellen Verhalten nach keine Rede sein; dieselben besitzen lediglich eine bei 0° noch erfolgende Vermehrungsfähigkeit, die bei Temperaturen von 20 bis 30° stets gröfser als bei niederen Temperaturen ist. Wenn die bei 0° noch wachsenden Bakterien nach dieser besonderen Fähigkeit benannt werden sollen, so ist die von Prof. Forster in der Vorlesung gebrauchte Bezeichnung als »glaciale Bakterien« den anderen als die bessere vorzuziehen.

II.

a) Die Vermehrung der Bakterien besteht in einer Zweiteilung des Zelleibes. Der Zeitraum, innerhalb dessen dieser Vorgang abläuft, wird als Generationsdauer bezeichnet. Da nun die Vermehrung der Bakterien bei gleich günstigen Wachstumsbedingungen je nach der herrschenden Temperatur schneller oder langsamer verläuft, so mufs sich auch ihre Generationsdauer in proportionaler Weise verändern. Die Vermehrungsintensität drückt sich also zahlenmäfsig in dem entsprechenden Generationsdauerwerte aus. Das kulturelle Verhalten eines Bakteriums läfst jedoch deutlich erkennen, dafs auch bei konstanter Temperatur die Vermehrung mit zunehmender Schnelligkeit einsetzt, um dann schliefslich nach Erschöpfung oder Veränderung des Nährbodens zu sistieren. Es ist also auch die Vermehrungsintensität in einem gegebenen Medium bei konstanter Temperatur in jedem Zeitpunkte eine verschieden starke, die ihren stärksten Grad erreicht hat, sobald die Generationsdauer am kürzesten geworden ist. Die Vergleichung dieser kürzesten Generationsdauerwerte gibt mithin auch einen vergleichenden Mafsstab für die stärkste Vermehrungsintensität bei den verschiedenen Temperaturen.

Von diesem Gedanken ausgehend, sollen die später folgenden Tabellen einen Einblick in das Wachstum der Bakterien bei 0^0 im Vergleich zu höheren Temperaturen gestatten.

Die Bestimmung der kürzesten Generationsdauer eines Bakteriums ist keineswegs einfach. — Nägeli[13]) war der Erste,

welcher die Vermehrungsintensität gewisser Bakterien festzustellen suchte. Derselbe bestimmte zu diesem Zwecke die von gährenden Bakterien in der Zeiteinheit gebildete Säuremenge und berechnete hieraus indirekt die Zahl der wirksamen Zellen. Da die Zahl der Aussaat bekannt war, so konnte hieraus die Zahl der Zellengenerationen mittels einer von Nägeli selbst angegebenen Gleichung bestimmt werden.

Nächst ihm haben H. Buchner, K. Longard und G. Riedlin gemeinschaftlich eine Methode bekannt gegeben, welche die Berechnung der Generationsdauer nach einer von ihnen aufgestellten Gleichung gestattet, und welche im Prinzipe auf der Wachstumsfähigkeit der Bakterien durch die Zweiteilung unter Zuhilfenahme des Kochschen Plattenverfahrens beruht.

Bestimmt man durch eine »primäre« Platte die Zahl der in der Kultur vorhandenen Bakterien, und durch eine »sekundäre« Platte die Zahl der nach einer gewissen Zeit vorhandenen Bakterien, so läfst sich unter Hinzuziehung der Zeit die Generationsdauer genau berechnen. Vorausgesetzt wird: 1. dafs das Bakterium sich in geometrischer Progression fortpflanzt, was bei den Stäbchen der Fall ist, und 2. dafs während der Bestimmungszeit kein Absterben der Bakterien erfolgt. Auch diese letztere Bedingung kann bei Versuchen von nicht allzulanger Dauer als erfüllt angesehen werden. Werden die Versuche über längere Zeit ausgedehnt, so müssen die erhaltenen Zahlen für die Generationsdauer als Maximalwerte angesehen werden.

Bezeichnet man die Zahl der Kolonien der primären Platte mit a, die der sekundären mit b, die Zahl der während des Versuches entstandenen Generationen mit n, die Zeit mit t und die Generationsdauer mit x, so ergibt sich x aus folgender Berechnung:

$$a \cdot 2^n = b$$

$$2^n = \frac{b}{a}$$

$$n = \frac{\log b - \log a}{\log 2}.$$

Da diese n Generationen in t Minuten entstanden sind, so braucht eine Generation $\frac{t}{n}$ Min. = Generationsdauer x

$$x = \frac{t}{n}$$

$$x = \frac{n \log 2}{\log b - \log a}.$$

Buchner, Longard und Riedlin impften 50 ccm Fleischwasserpeptonlösung und fertigten mit je 1 ccm der geimpften Flüssigkeit die Platten an. Aus den entwickelten Kolonien wurde mittels mikroskopischer Zählung von 10 bis 30 Feldern die Gesamtzahl bestimmt.

Auf diese Weise fanden die genannten Autoren für den Vibrio cholerae eine zwischen 19,3 und 40,0 Min. schwankende Generationsdauer.

Diese Werte sind gelegentlich weiterer Generationsdauerbestimmungen (Müller[15]), Hehewerth[16]) sowie von den Autoren selbst bereits diskutiert worden, ohne dafs man die nächstliegende Fehlerquelle erkannt hat. Meiner Erfahrung nach liegt die Erklärung für diese grofsen Schwankungen in den B. L. R.'schen Versuchen hauptsächlich in der Anfertigung der Platten mit zu grofsen Mengen (1 ccm), wodurch die sekundären Platten eine viel zu grofse Dichtigkeit und ungleichmäfsige Verteilung der Bakterien erhielten. Das Zählen von nur 10 bis 30 — 0,0156 qmm grofsen Feldern auf einer Platte von 80 qcm (= 512820 Gesichtsfelder) und einer Kolonienzahl von 5—10 Millionen mufs bei Ausschlufs jeder weiteren Fehlerquelle variabele Werte geben. Eine Bestätigung für die Richtigkeit dieser Ansicht ergibt sich aus den Generationsdauerbestimmungen von F. Basenau[17]) über den Bacillus bovis morbificans, sowie denen M. Müllers[18]) über das Bacterium typhi. Beide erhielten bei der Anwendung stärkerer Verdünnungen und der gleichen Methodik der Wirklichkeit mehr entsprechende Resultate.

Im übrigen möge bereits an dieser Stelle erwähnt sein, dafs sich gemäfs der am Beginn dieses Abschnittes erfolgten Erörterung ein bestimmter Generationsdauerwert für ein gewisses

Bakterium überhaupt nicht aufstellen läſst. Die Generationsdauer eines Bakteriums ist vielmehr ein konstant variabeler Zeitwert. Diese Werte in ihrer Gesamtheit auf ein Koordinatensystem aufgetragen, stellen eine nach oben offene hyperbelähnliche Kurve dar. Es ist also auch in dieser Hinsicht den B. L. R.'schen Versuchen Rechnung zu tragen.

Eine Methode, welche die gleiche Berechnung zu Grunde legt, jedoch das Plattenverfahren vermeidet, hat A. Klein[19]) angegeben.

An Stelle der Berechnung der Bakterienanzahl mittels des Kochschen Plattenverfahrens wählt Klein die direkte Zählung der vorhandenen Bakterien mittels des Mikroskopes unter Anwendung der Färbung der Bakterien im feuchten Zustande.

0,1 bis 1,0 ccm einer Kultur werden mit der gleichen oder gröſseren abgemessenen Menge einer Farbflüssigkeit vermengt und gut durchmischt. Diesem Gemenge wird eine Öse von bekanntem Fassungsvermögen entnommen und der Inhalt dieser Öse gleichmäſsig auf ein Deckgläschen ausgestrichen. Mittels des Mikroskopes wird nun die Anzahl der Bakterien in ca. 50 Gesichtsfeldern bestimmt und hieraus das arithmetische Mittel für ein Gesichtsfeld berechnet. Bei bekanntem Fassungsvermögen der Öse, bekannter Gröſse des Gesichtsfeldes und des Deckgläschens läſst sich die Anzahl der Bakterien in einer gewissen Menge der Kultur direkt berechnen.

Die Kleinsche Methode unterscheidet sich in ihren Resultaten von der Plattenmethode dadurch, daſs die erstere die Gesamtzahl sowohl der toten als auch der lebenden Bakterien bestimmt, während das Resultat der Plattenmethode den Wert der vorhandenen lebenden Bakterien angibt.*)

Weiterhin hat dann neuerdings G. W. Boland[20]) unter Leitung von Klein eine Methode ausgearbeitet, welche die Generationsdauer ohne direkte Bestimmung der Bakterienzahl berechnen läſst.

---

*) Es drängt sich hier der Gedanke auf, durch gleichzeitige Anwendung beider Methoden die Anzahl der abgestorbenen Individuen feststellen zu können. Inwieweit dieser theoretische Schluſs praktisch statthaft ist, wird an einer späteren Stelle kurz diskutiert werden.

Boland geht hierbei von der Formel $2^n = \frac{b}{a}$ aus. Kennt man den Wert des Verhältnisses von $b:a$, so läſst sich hieraus n, und weiterhin die Generationsdauer x nach der Formel $x = \frac{t}{n}$ berechnen. — Den Wert für die Verhältniszahl bestimmt Boland durch Vergleichen der Kulturen mit Normal- oder Standarttrübungen, deren Verhältniszahlen zueinander bekannt sind. Diese Trübungen werden wegen der Inkonstanz der Bakterientrübungen durch verschieden starke Talkaufschwemmungen hergestellt. Nach der Bolandschen Angabe genügen fünf solcher Vergleichstrübungen, deren Verhältniszahlen am zweckmäſsigsten betragen sollen: A — 5; B — 8; C — 14; D — 23; E — 35. Der Wert für n läſst sich dann in folgender Weise berechnen: Impfe ich z. B. aus einer Bouillonkultur, welche eine mit der Normaltrübung A übereinstimmende Trübung zeigt, eine Öse voll in ein frisches Bouillonröhrchen und bestimme die Zeit, nach welcher dieses Röhrchen die gleiche Trübung wie die Ausgangskultur also auch wie die Standarttrübung A zeigt, so sind bei bekannter Menge der geimpften Flüssigkeit und bekanntem Fassungsvermögen der Öse so viel mal mehr Bakterien aus der in der Öse enthalten gewesenen Anzahl von Bakterien gebildet worden, als das Fassungsvermögen der Ose in der Menge der geimpften Flüssigkeit enthalten ist.

Es wäre also für diesen speziellen Fall

$$2^n = \frac{b}{a} = \frac{\text{Menge der geimpften Bouillon}}{\text{Fassungsvermögen der Öse}}.$$

Beträgt die Menge der geimpften Bouillon 5 ccm, das Fassungsvermögen der Öse 1 mg, so ist:

$$2^n = \frac{5000}{1};\ n = \frac{\log 5000}{\log 2};\ x = \frac{t}{n}.$$

Kommt nach einer Frist dieselbe Kultur überein mit der Trübung B, so befinden sich, die oben angegebenen Verhältniszahlen angenommen, $^8/_5$ mal soviel Bakterien in der geimpften

Kultur als in derjenigen, aus welcher geimpft wurde. Die Formel $2^n = \frac{b}{a}$ wäre also für diesen Fall:

$$2^n = \frac{{}^8/_5 \cdot b}{a} = \frac{{}^8/_5 \cdot 5000}{1};\ n = \frac{\log 8000}{\log 2};\ x = \frac{t}{n}.$$

Im ganzen lassen sich mittels der fünf Standarttrübungen 25 Kombinationen zusammenstellen und mithin auch 25 Werte für die Generationsdauer berechnen.

Für die folgenden Versuche konnte keine dieser Methoden zur Anwendung kommen. Das Boland sche Verfahren mufs von vornherein ausgeschaltet werden, da die Versuchsreihen gleichzeitig einen Einblick in die Mengen der vorhandenen Bakterien gestatten sollen. Fernerhin ist sowohl das Bolandsche als auch das Kleinsche Verfahren erst dann anwendbar, wenn im Kubikzentimeter der Kultur mindestens einige Millionen Bakterien anwesend sind. In diesem Stadium der Entwicklung ist aber, wie aus den Tabellen ersichtlich, häufig die kürzeste Generationsdauer bereits überschritten. Nun liegt aber, wie eingangs schon erörtert, der praktische Wert der Generationsdauerbestimmung gerade darin, die maximale Vermehrungsgeschwindigkeit = kürzeste Generationsdauer zu eruieren.

Um diese Werte wenigstens annähernd zu erhalten, ist es nötig: 1. von einer möglichst geringen Bakterienzahl auszugehen; 2. eine gröfsere Anzahl von Generationsdauerwerten zu berechnen.

Bei meinen Versuchen war fernerhin darauf Rücksicht zu nehmen: 1. dafs die Versuche bei fünf verschiedenen Temperaturen (30°; 25°; 12°; 6°; 0°) gleichzeitig angestellt werden sollten; 2. dafs die beschränkten Raumverhältnisse im Eiskalorimeter das Aufbewahren einer gröfseren Menge geimpfter Flüssigkeit nicht gestatteten; 3. dafs aus einer geringen Menge geimpfter Flüssigkeit eine gröfsere Anzahl von Platten anzufertigen war, ohne durch eine wesentliche Verminderung des Volumens der Kultur die Wachstumsbedingungen zu alterieren.

Diesen Anforderungen konnte durch folgendes Verfahren nach Möglichkeit genügt werden:

Um aus einer relativ geringen Menge (5 ccm) eines flüssigen Kulturmediums eine gröfsere Anzahl von Platten anfertigen zu

können, ohne die Kulturflüssigkeit wesentlich zu verringern, wurden geeichte Spiralen und Ösen zur Plattenanlage verwendet. Da diese geeichten Spiralen und Ösen, deren Fassungsvermögen gelegentlich nachkontrolliert wurde, konstant die gleichen Mengen fassen, so ermöglicht ihre Anwendung nicht nur eine Materialersparnis der Kultur, sondern auch gleichzeitig eine äufserst genaue Zählung der in dieser Menge vorhandenen Bakterien. Durch Überimpfung progressiv kleiner werdender Kulturmengen zu den Zählplatten, konnten möglichst genaue zählbare Platten erhalten werden. Auf diese Weise wurde gleichzeitig die durch die Verdünnungsmethode entstehende Fehlerquelle so lange als möglich vermieden. Nach einer gewissen Zeit wird aber selbst eine Öse von 0,4 mg eine so dicht besäte Platte geben, dafs eine annähernd genaue Zählung nicht mehr möglich ist; infolgedessen ist nun eine Verdünnungsmethode nicht mehr zu umgehen. Bei den meisten Versuchen wurde die Verdünnungsmethode bereits dann angewendet, wenn eine Öse von 1,6 mg voraussichtlich eine zu dicht besäte Platte ergab. Makroskopisch war dieser Zeitpunkt erkenntlich, sobald eine deutliche Bakterientrübung bemerkbar wurde. In diesem Zeitpunkte ist einerseits die kürzeste Generationsdauer häufig schon überschritten, anderseits ist die Bakterienzahl so stark angewachsen, dafs es gleichgültig ist, ob man bei der Berechnung einige zehntausend Bakterien mehr oder weniger im Kubikzentimeter findet.

Die infolge der Verdünnungsmethode entstehende Fehlerquelle wurde auf folgende Weise nach Möglichkeit reduziert:

1. Es wird eine relativ grofse Menge der Kultur (81—8 mg) in das Verdünnungsmedium übergeimpft.
2. Um ein kräftiges Durchmischen der Verdünnungsflüssigkeit vornehmen zu können, wird physiologische NaCl-Lösung verwendet.
3. Die Zählplatte wird wiederum mit möglichst grofser Menge (81—8 mg) der geimpften Verdünnungsflüssigkeit angelegt.
4. Die Menge der Verdünnungsflüssigkeit wird nach der Anfertigung der Zählplatte mittels graduierter Pipette genau

gemessen, wobei es genügend ist, die an der Wand adhärierende Flüssigkeitsmenge als nahezu konstant bleibenden Wert schätzungsweise in Berechnung zu ziehen.

Nach der vorstehenden Ausführung wird man leicht zu der Annahme neigen, dafs zu dieser Methodik eine gröfsere Anzahl von Spiralen und Ösen nötig sei, was jedoch keineswegs der Fall ist. Sämtliche folgenden Untersuchungen sind mit drei Spiralen von einem Fassungsvermögen von 81, 21 und 7,9 mg, sowie mit zwei Ösen von 1,6 und 0,4 mg angestellt worden.

Die Zählplatten wurden in der Weise angefertigt, dafs die mit nichtentfetteter Watte versehenen Gelatineröhrchen sofort nach erfolgter Impfung und Durchmischung in Rollplatten verwandelt wurden. Dieses Verfahren hat zum Zwecke der Zählung vor dem Plattenverfahren mit Petrischen Schalen unverkennbare Vorteile. Abgesehen von der Ersparnis an Schalen vermeidet das Rollverfahren jene Fehlerquelle, welche durch das Zurückbleiben der Gelatine im Reagensglase verursacht wird, und welche je nach der Temperatur der verflüssigten Gelatine in stärkerem oder geringerem Mafse zum Ausdruck kommt. Bei guter Durchmischung und gleichmäfsigem Ausrollen gestatten fernerhin die Rollröhrchen ein schnelles Zählen der Kolonien mittels der für Reagensgläser besonders konstruierten Lupe. Nicht zu dicht besäte Röhrchen mit einer Gesamtzahl bis zu ca. 500 Kolonien wurden ganz durchgezählt. Bei stärkerer Besäung wurden je nach der Dichtigkeit der aufgekommenen Kolonien zehn gleichgrofse Gesichtsfelder von 1,5, 1,0, $^1/_4$, $^1/_{16}$, selten $^1/_{25}$ qcm Gröfse in der Weise bestimmt, dafs Papierscheibchen mit Ausschnitten in den oben genannten Gröfsen direkt dem Glase aufgelegt werden. Das Verschieben dieses Ausschnittes hat ohne gleichzeitige Benutzung der Lupe in unparteiischer Weise über die ganze Oberfläche hinweg zu erfolgen. — Innerhalb einer Stunde lassen sich auf diese Weise bei einiger Übung ca. 15 Röhrchen mit hinreichender Genauigkeit zählen. Das arithmetische Mittel aus den zehn gezählten Feldern ergibt die Durchschnittszahl für die Gröfse der gezählten Fläche, woraus durch einfache Umrechnung die Anzahl der Kolonien pro qcm gefunden werden kann.

Die Gesamtzahl ergibt sich aus der Zahl pro qcm mal der Oberfläche

$$O = 2\, r\, \pi\, h + r^2\, \pi.$$

Wählt man bei der Anfertigung der Rollröhrchen stets gleichweite Reagensgläser von 1,6 cm Durchmesser und macht man durch Hineindrücken des Wattepfropfens $h = 11{,}5$ cm, so ergibt sich für $O = 2\, r\, \pi\, h + r^2\, \pi = 57{,}7760 + 2{,}0096 = 59{,}7856 = 60$ qcm. Die Anzahl der Kolonien pro qcm mal 60 stellt also die Gesamtanzahl der Kolonien des Rollröhrchens dar, welche aus der gleichen in der Spirale oder Öse enthalten gewesenen Anzahl von Bakterien entstanden sind. Da jedoch Spiralen und Ösen von verschiedenem Fassungsvermögen verwendet worden sind, so bedarf es, um die gefundenen Zahlen vergleichen zu können, der Umrechnung sämtlicher Werte auf ein gleiches Volumen, wozu sich am besten die Mafseinheit eignet. Diese Werte gestatten dann auch die Berechnung der Generationsdauer nach der Formel:

$$x = \frac{t \log 2}{\log b - \log a}.$$

Um stark gelatine-verflüssigende Bakterien auf diese Weise zählen zu können, mufs man die Kolonien im Eisschranke aufkommen lassen, wodurch die Verflüssigung der Gelatine so hintangehalten wird, dafs man die eben makroskopisch sichtbar werdenden Kolonien bequem und deutlich mit der Lupe zählen kann.

Diese Methodik gestattet es, die Generationsdauerwerte bei konstanter Temperatur für jeden beliebigen Zeitpunkt zahlenmäfsig darzustellen. Bei einer genügenden Anzahl von Bestimmungen wird man also auch die kürzeste Generationsdauer und hiermit den Zeitpunkt der stärksten Vermehrungsintensität erhalten können. Um nun noch die kürzeste Generationsdauer unter gleichen Bedingungen für die fünf verschiedenen Temperaturen feststellen zu können, wird auf folgende Weise verfahren: Aus einer ca. 20stündigen bei 25° gewachsenen Bouillonkultur wird eine 0,4 mg fassende Öse in ein Pasteursches Kölbchen mit 40 ccm Bouillon übergeimpft, gut gemischt und sodann ein Zählröhrchen nebst Kontrolle mittels der gröfsten Spirale an-

gefertigt. Unmittelbar hierauf werden je 5 ccm der Bouillon in Reagensgläser, welche bei den betreffenden Temperaturen gehalten werden, steril überpipettiert. Nach gewissen Zeiten sind dann für jede Temperatur die Rollröhrchen in der oben angegebenen Weise mit progressiv kleiner werdenden Mengen anzufertigen. Bei dieser Methodik enthalten die Kulturröhrchen für die verschiedenen Temperaturen 1. die gleiche Menge an Bakterien und 2. eine möglichst geringe Anzahl von Bakterien (einige Tausend pro ccm).

b) Tabelle I, 30° gibt die Versuchsanordnung in detaillierter Weise wieder. Weiterhin sind unter Fortlassung der 2., 3., 4. und 5. Rubrik nur die einer näheren Betrachtung zu unterziehenden Werte angegeben.

Tabelle I.

Bacterium A.

30°

Nr.	Übergeimpfte Menge	Gröfse des gezählten Feldes	Zahl der Kolonien im Felde	Zahl der Kolonien der Platte	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach der Impfung	Generationsdauer
1	81 mg	60 qcm	111	111	1 370	—	—
2	81 »	60 »	117	117	1 440	6 Min.	(73′ 10″)
3	81 »	60 »	173	173	2 150	1 St.	(93′ 14″)
4	81 »	60 »	287	287	3 560	2 »	87′ 6″
5	42 »	60 »	276	276	6 580	3 »	80′ 4″
6	21 »	60 »	445	445	21 190	4 »	60′ 46″
7	21 »	1,5 »	27	1 080	51 430	5 »	57′ 20″
8	16 »	1,5 »	62	2 500	156 250	6 »	52′ 42″
9	8 »	1,0 »	53	3 180	397 500	7 »	51′ 19″
10	8 »	1/4 »	31	7 440	930 000	8 »	51′ 1″
11	8 »	1/4 »	72	17 280	2 160 000	9 »	50′ 47″
12	3,6 »	1/16 »	21	20 160	5 610 000	10 »	50′ 1″
13	1,8 »	1/16 »	48	46 100	25 610 000	11 »	47′ 39″
14	81 : 6,2 H_2O—81	1/16 »	36	34 560	60 628 000	12 »	46′ 38″
15	21 : 6,3 — 21	1/16 »	17	16 320	233 100 000	24 »	82′ 47″
16	21 : 7,2 — 21	1/16 »	17	17 280	252 000 000	28 »	95′ 52″
17	21 : 7,2 — 21	1/16 »	23	22 280	363 300 000	36 »	119′ 56″
18	8 : 6,0 — 8	1/16 »	14	13 440	1 260 000 000	48 »	145′ 19″
19	8 : 10,2 — 8	1/4 »	36	8 640	1 377 000 000	72 »	215′ 47″

25°

Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach der Impfung	Generationsdauer
1	1 370	—	—
20	1 430	7 Min.	(113′ 10″)
21	2 190	1 St.	(88′ 40″)
22	3 620	2 ›	85′ 41″
23	7 140	3 ›	75′ 35″
24	15 700	4 ›	68′ 13″
25	43 800	5 ›	60′ 1″
26	60 900	6 ›	65′ 47″
27	230 000	7 ›	56′ 49″
28	600 000	8 ›	54′ 43″
29	1 320 000	9 ›	54′ 28″
30	3 130 000	10 ›	53′ 46″
31	8 000 000	11 ›	51′ 24″
32	22 125 000	12 ›	51′ 30″
33	215 100 000	24 ›	83′ 25″
34	239 000 000	28 ›	96′ 28″
35	320 400 000	36 ›	121′ 7″
36	945 800 000	48 ›	124′ 34″
37	1 042 500 000	72 ›	221′ 3″

12°

Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach der Impfung	Generationsdauer
1	1 370	—	—
38	1 380	10 Min.	(952′ 37″)
39	2 060	2 St.	(291′ 42″)
40	2 530	4 ›	(271′ 13″)
41	3 500	6 ›	266′ 8″
42	6 570	8 ›	212′ 13″
43	11 000	10 ›	199′ 37″
44	21 100	12 ›	182′ 25″
45	827 000	24 ›	155′ 53″
46	4 000 000	28 ›	145′ 56″
47	12 700 000	32 ›	115′ 38″
48	53 400 000	36 ›	141′ 38″
49	184 600 000	48 ›	168′ 59″
50	266 500 000	60 ›	204′ 54″
51	350 600 000	72 ›	240′ 27″
52	805 100 000	96 ›	300′ 34″
53	1 225 500 000	120 ›	364′ 5″

6°

Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach der Impfung	Generationsdauer
1	1 370	—	—
54	1 380	12 Min.	—
55	1 650	4 St.	(14 St. 51′)
56	2 160	8 ›	(12 › 8′)
57	2 860	12 ›	11 › 17′
58	8 000	24 ›	9 › 26′
59	11 600	28 ›	9 › 2′
60	17 500	32 ›	8 › 43′
61	27 900	36 ›	8 › 17′
62	79 400	48 ›	8 › 12′
63	130 000	52 ›	7 › 55′
64	180 000	56 ›	7 › 55′
65	273 000	60 ›	7 › 52′
66	1 353 000	72 ›	7 › 14′
67	1 956 000	76 ›	7 › 15′
68	13 545 000	96 ›	7 › 14′
69	22 378 000	104 ›	7 › 26′
70	102 966 000	120 ›	7 › 32′
71	187 500 000	144 ›	8 › 26′
72	301 000 000	168 ›	9 › 55′
73	500 250 000	192 ›	10 › 23′

0°

Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach der Impfung	Generationsdauer
1	1 370	—	—
74	1 296	15 Min.	—
75	1 963	24 St.	(46 St. 15′)
76	2 200	2 Tage	(44 › 22′)
77	4 240	3 ›	44 › 10′
78	7 500	4 ›	39 › 8′
79	22 000	5 ›	30 › 27′
80	55 000	6 ›	27 › 2′
81	166 000	7 ›	24 › 17′
82	450 000	8 ›	22 › 40′
83	1 022 000	9 ›	22 › 38′
84	2 964 000	10 ›	21 › 39′
85	10 266 000	11 ›	20 › 31′
86	30 450 000	12 ›	19 › 57′
87	68 500 000	14 ›	21 › 29′
88	125 700 000	16 ›	23 › 17′
89	224 000 000	18 ›	24 › 56′
90	293 000 000	20 ›	27 › 44′
91	420 000 000	23 ›	30 › 17′

Tabelle II. **Bacterium B.**

Temperatur	Platten-Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach d. Impfung	Generationsdauer
30 °	1	5 190	—	—
	2	28 600	3 St.	73′ 10″
	3	142 500	5 ›	62′ 46″
	4	540 000	6 ›	53′ 44″
	5	1 660 000	7 ›	50′ 56″
	6	7 820 000	9 ›	51′ 10″
	1a	14 800	—	—
	7	40 950 000	10 ›	52′ 28″
	8	94 200 000	12 ›	56′ 58″
	9	177 840 000	14 ›	62′ —
	10	770 400 000	20 ›	76′ 36″
	11	2 871 000 000	36 ›	122′ 54″
25 °	1	5 190	—	—
	12	21 840	3 St.	86′ 50″
	13	114 500	5 ›	67′ 12″
	14	426 000	6 ›	56′ 38″
	15	1 240 000	7 ›	53′ 9″
	16	5 760 000	9 ›	53′ 24″
	1a	14 800	—	—
	17	26 100 000	10 ›	55′ 38″
	18	73 100 000	12 ›	58′ 40″
	19	141 400 000	14 ›	63′ 32″
	20	543 100 000	20 ›	79′ 8″
	21	2 052 000 000	36 ›	126′ 30″

Temperatur	Platten-Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach d. Impfung	Generationsdauer
ca. 12 °	1a	14 800	—	—
	22	40 000	12 St.	501′ 48″
	23	638 000	20 ›	220′ 54″
	24	46 100 000	36 ›	190′ 30″
	25	1 288 800 000	60 ›	220′ 24″
	26	2 550 000 000	84 ›	289′ 42″
5 ° bis 6 °	1a	14 800	—	—
	27	18 800	12 St.	(344 St. 45′)
	28	384 000	60 ›	12 › 50′
	29	84 480 000	84 ›	6 › 44′
	30	1 743 000 000	108 ›	6 › 25′
	31	2 190 000 000	132 ›	7 › 41′
0 °	1a	14 800	—	—
	32	14 800	1 Tag	—
	33	120 000	5 Tage	40 St. 24′
	34	12 300 000	8 ›	19 › 48′
	35	54 000 000	11 ›	22 › 18′
	36	306 000 000	14 ›	23 › 18′
	37	471 250 000	17 ›	27 › 24′
	38	685 000 000	20 ›	30 › 59′
	39	1 058 000 000	23 ›	34 › 12′
	40	1 390 000 000	26 ›	37 › 47′

Tabelle III. **Bacterium C.**

Temperatur	Platten-Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach d. Impfung	Generationsdauer
30°	1	4 275	—	—
	2	5 400	1 St.	(113′ 2″)
	3	15 000	3 »	99′ 24″
	4	570 000	6 »	51′ —
	5	5 688 000	8 »	46′ 15″
	6	13 050 000	10 »	51′ 49″
	7	396 000 000	24 »	87′ 18″
	8	450 000 000	30 »	107′ 54″
25°	1	4 275	—	—
	9	5 225	1 St.	(207′ 15″)
	10	12 000	3 »	120′ 54″
	11	300 000	6 »	58′ 2″
	12	2 070 000	8 »	53′ 48″
	13	5 083 000	10 »	73′ 56″
	14	315 000 000	24 »	89′ 4″
	15	350 000 000	30 »	110′ 18″
10° bis 12°	1	4 275	—	—
	16	7 380	3 St.	(228′ 30″)
	17	23 330	10 »	245′ 9″
	18	3 225 000	24 »	150′ 42″
	19	22 200 000	30 »	145′ 54″
	20	49 920 000	34 »	151′ —
	21	418 000 000	48 »	173′ 42″
	22	638 000 000	56 »	195′ 30″
	23	888 000 000	72 »	244′ 36″

Temperatur	Platten-Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach d. Impfung	Generationsdauer
3° bis 6°	1	4 275	—	—
	24	7 000	10 St.	(14 St. 3′)
	25	36 000	24 »	7 » 49′
	26	490 000	48 »	7 » 1′
	27	869 000	72 »	9 » 23′
	28	2 790 000	96 »	10 » 16′
	29	25 200 000	120 »	9 » 45′
	30	202 000 000	144 »	9 » 17′
	31	378 000 000	168 »	10 » 13′
	32	441 000 000	216 »	31 » 8′
0°	1	4 275	—	—
	33	3 780	24 St.	—
	34	5 400	2 Tage	(143 St. 3′)
	35	9 000	3 »	67 » 2′
	36	12 600	4 »	61 » 34′
	37	30 600	8 »	67 » 37′
	38	150 000	10 »	46 » 45′
	39	570 000	12 »	40 » 48′
	40	3 000 000	14 »	35 » 32′
	41	10 800 000	16 »	33 » 59′
	42	31 500 000	18 »	33 » 38′
	43	100 500 000	21 »	34 » 43′
	44	155 000 000	24 »	38 » 21′
	45	219 400 000	27 »	41 » 25′
	46	297 500 000	30 »	44 » 45′
	47	412 500 000	36 »	52 » 11′
	48	586 500 000	42 »	59 » 4′

Tabelle IV.

Bacterium D.

Temperatur	Platten-Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach d. Impfung	Generationsdauer
30°	1	5 190	—	—
	2	33 460	3 St.	66′ 48″
	3	346 000	5 »	49′ 31″
	4	1 140 000	6 »	46′ 11″
	5	3 496 000	7 »	44′ 42″
	6	12 560 000	9 »	48′ 3″
	1a	1 800	—	—
	7	16 200 000	10 »	44′ 38″
	8	34 600 000	12 »	50′ 35″
	9	58 500 000	14 »	56′ 3″
	10	86 700 000	20 »	77′ 9″
	11	276 800 000	36 »	124′ 18″
25°	1	5 190	—	—
	12	31 330	3 St.	69′ 24″
	13	312 000	5 »	50′ 52″
	14	957 500	6 »	47′ 50″
	15	3 300 000	7 »	45′ 6″
	16	11 340 000	9 »	48′ 43″
	1a	1 800	—	—
	17	11 250 000	10 »	47′ 35″
	18	27 720 000	12 »	51′ 44″
	19	45 360 000	14 »	57′ 28″
	20	67 200 000	20 »	79′ —
	21	284 800 000	36 »	125′ 6″

Temperatur	Platten-Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach d. Impfung	Generationsdauer
ca. 12°	1a	1 800	—	—
	22	97 500	12 St.	125′ —
	23	1 200 000	20 »	126′ 54″
	24	28 100 000	36 »	155′ 6″
	25	80 400 000	60 »	233′ 8″
	26	370 500 000	84 »	285′ 30″
ca. 5°	1a	1 800	—	—
	27	8 000	12 St.	5 St. 34′
	28	5 160 000	60 »	5 » 13′
	29	19 980 000	84 »	6 » 15′
	30	60 420 000	108 »	7 » 11′
	31	114 000 000	132 »	8 » 16′
0°	1b	4 740	—	—
	32	5 430	24 St.	122 St. 15′
	33	13 100	2 Tage	32 » 43′
	34	38 200	3 »	23 » 55′
	35	101 100	4 »	21 » 45′
	36	271 600	5 »	20 » 33′
	37	1 073 000	6 »	19 » 17′
	38	4 992 000	7 »	17 » 44′
	39	20 400 000	8 »	15 » 55′
	40	36 000 000	9 »	16 » 45′
	41	60 000 000	10 »	17 » 26′
	42	74 500 000	11 »	18 » 51

Tabelle V. **Bacillus fluorescens liquefaciens.**

Temperatur	Platten-Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach d. Impfung	Generationsdauer
30°	1	1 325	—	—
	2	1 500	1 St.	335′ 16″
	3	3 200	3 »	165′ 43″
	4	28 125	6 »	81′ 42″
	5	150 000	8 »	70′ 21″
	6	862 500	10 »	64′ 11″
	7	832 500 000	24 »	74′ 46″
	8	1 092 000 000	30 »	91′ 36″
25°	1	1 325	—	—
	9	1 413	1 St.	(646′ 51″)
	10	2 290	3 »	228′ 6″
	11	11 875	6 »	113′ 48″
	12	56 250	8 »	88′ 46″
	13	210 000	10 »	82′ 6″
	14	720 000 000	24 »	75′ 36″
	15	744 000 000	30 »	94′ 26″
10° bis 12°	1	1 325	—	—
	16	2 143	3 St.	(260′ 20″)
	17	5 000	10 »	313′ 10″
	18	600 000	24 »	163′ 48″
	19	3 000 000	30 »	161′ 30″
	20	15 840 000	34 »	189′ 30″
	21	120 000 000	48 »	138′ 54″
	22	336 000 000	56 »	187′ 12″
	23	1 254 000 000	72 »	217′ 36″

Temperatur	Platten-Nr.	Bakterienzahl in 1 ccm Bouillon	Zeit nach d. Impfung	Generationsdauer
3° bis 6°	1	1 325	—	—
	24	1 460	10 St.	(71 St. 27′)
	25	4 160	24 »	45 » 24′
	26	13 000	48 »	14 » 40′
	27	640 000	72 »	8 » 4′
	28	8 880 000	96 »	7 » 33′
	29	47 000 000	120 »	8 » 4′
	30	124 400 000	144 »	8 » 14′
	31	504 000 000	168 »	9 » 4′
	32	1 153 000 000	216 »	26 » 17′
0°	1	1 325	—	—
	33	1 250	24 St.	—
	34	4 240	4 Tage	57 St. 13′
	35	390 000	8 »	23 » 25′
	36	3 120 000	10 »	21 » 26′
	37	61 200 000	14 »	21 » 41′
	38	106 600 000	16 »	23 » 33′
	39	342 000 000	18 »	24 » 2′
	40	675 000 000	21 »	26 » 35′
	41	1 125 000 000	24 »	29 » 14′
	42	1 800 000 000	42 »	49 » 29′

Es erübrigt sich, die Einzelheiten dieser Tabellen näher zu diskutieren, da dieselben nur einen allgemeinen Überblick über die Menge der lebenden Bakterien und die Intensität des Wachstums bei 0^0 im Vergleich mit höheren Temperaturen gestatten sollen.

Denkt man sich die Generationsdauerwerte eines Bacteriums auf ein Koordinatensystem aufgetragen, so lassen sich die Kurven für die einzelnen Temperaturen annähernd darstellen. Diese Kurven fallen sämtlich von der Ordinate gegen die Abszisse, ohne diese jemals zu erreichen, und steigen allmählich wieder bis schliefslich ins Unendliche. Der Scheitelpunkt der Kurve nähert sich um so mehr der Abszisse, je kürzer die Generationsdauer ist. Da nun die Generationsdauer wiederum von den herrschenden Temperaturverhältnissen direkt abhängig ist, so ist auch die Gestalt der Kurve je nach der herrschenden konstanten Temperatur eine verschiedene, und zwar der Art, dafs dieselbe bei höheren — das Wachstum günstig beeinflussenden — Temperaturen schnell und stark zur Abszisse fällt, um bald wieder mit geringerer Intensität bis schliefslich ins Unendliche zu steigen, während die Kurve bei niederer Temperatur entsprechend dem wachstumhemmenden Einflufs dieser Temperatur in flacherer Weise verläuft und sich gleichzeitig immer weniger mit ihrem Scheitel der Abszisse nähert.

Für die Werte der jeweiligen Anzahl lebender Bacterien kann man sich in gleicher Weise Kurven konstruiert denken, die im Gegensatz zu den Generationsdauerkurven vom Nullpunkt des Koordinatensystems aufsteigen. Das Ansteigen dieser Kurve erfolgt bei der Optimaltemperatur am stärksten und nimmt proportional dem Abfallen der Temperatur ab. Dem Ermessen nach werden diese Kurven allerdings nach verschieden langer Zeit eine gewisse, vielleicht annähernd gleiche Höhe erreichen, worauf in der umgekehrten Weise des Ansteigens das Abfallen der Kurven erfolgen wird. Da die Tabellen nur die Anzahl der lebenden Bakterien angeben, so wird natürlich die Kurve für die Gesamtzahl der produzierten Bakterien in späteren Stadien einen wesentlich anderen Verlauf nehmen.

Diese Kurve mufs, bis das Bakterienwachstum schliefslich sistiert, ständig ansteigen.

Es ist bereits bei Besprechung der Methodik der Kleinschen Zählmethode darauf hingewiesen worden, dafs diese die Gesamtzahl der Bakterien, sowohl der lebenden als auch der toten, zu bestimmen gestattet, während die Plattenmethode nur die Zahl der lebenden Bakterien angibt. Die gleichzeitige Bestimmung der Bakterienzahl nach beiden Methoden müfste also auch eine Vergleichung der beiden Kurven für die Gesamtzahl und die Zahl der lebenden Bakterien gestatten. Meine Methodik hat die gleichzeitige Ausführung des Kleinschen Verfahrens allein wegen des geringen, mir zur Verfügung stehenden Materials in ausgiebiger Weise nicht gestattet. Es konnte deshalb nur am Schlusse einer Versuchsreihe ein Vergleich zwischen den Resultaten der beiden Methoden gezogen werden. Die folgende Tabelle gibt die nach beiden Methoden gefundenen Zahlenwerte wieder.

Tabelle VI.

Bacterium	Platten-Nr.	Temperatur	Plattenmethode	Mikroskopische Methode
C	8	30°	450 000 000	515 900 000
	15	25°	350 000 000	429 000 000
	23	12°	888 000 000	716 600 000
	48	0°	586 500 000	659 200 000
Fluor-liquef.	8	30°	1 092 000 000	801 300 000
	15	25°	744 000 000	773 900 000
	23	12°	1 254 000 000	1 031 800 000
	48	0°	1 800 000 000	917 200 000
D	11	30°	276 800 000	360 100 000
	21	25°	284 800 000	315 300 000
B	40	0°	1 390 000 000	1 805 100 000

In der Tat ergeben die Berechnungen nach der Kleinschen Methode mit Ausnahme der Befunde für den Bacillus fluorescens liquefaciens eine gröfsere Bakterienzahl wie die Plattenmethode, mithin steigt auch die Kurve für die Gesamt-

zahl stärker als für die Anzahl der vorhandenen lebenden Bakterien. Theoretisch müfste nun die Differenz in den Resultaten der beiden Methoden die Anzahl der vorhandenen toten Bakterien zum Ausdruck bringen, wie dies auch Hehewerth angenommen hat. Gegen diese Folgerung hege ich Bedenken, da die in dieser Richtung untersuchten Bakterien häufig in Diploverbänden auftreten. Während sich nun jedes Diplostäbchen oder ein zusammenhängendes Bakterienhäufchen bei der Plattenmethode als eine Kolonie markiert, zieht die mikroskopische Methode jedes Diplostäbchen als zwei Organismen und ein Bakterienhäufchen mit der betreffenden Anzahl in Berechnung. Die mit der Plattenmethode gefundene Bakterienmenge gibt demnach eine Mindestanzahl vorhandener lebender Organismen an, die nicht ohne weiteres von der Maximalzahl (Kleinsche Methode) zwecks Bestimmung der Anzahl toter Bakterien subtrahiert werden kann.

Dafs auch in einem Bakteriengemische die Vermehrung bei konstanter Temperatur in ähnlicher Weise verläuft, wie dies für einzelne Bakterienarten gezeigt worden ist, ergibt sich aus der Tabelle VII. Um ein natürliches Bakteriengemenge untersuchen zu können, wurde als Versuchsmaterial eine gewöhnliche frische Handelsmilch gewählt. Die letzte Bestimmung für jede Temperatur wurde nach erfolgter Gerinnung der Milch vorgenommen. Bei 0°. war diese bereits bei der vorletzten Bestimmung eingetreten.

(Siehe Tabelle VII auf S. 37.)

Aus der Gesamtheit der Tabellen geht hervor, dafs auch bei 0° noch ein bedeutendes Bakterienwachstum stattfindet. Allerdings ist bei dieser Temperatur die Generationsdauer und demgemäfs die Vermehrungsintensität eine geringere als bei höheren Temperaturen. Legt man einem Vergleiche die kürzesten gefundenen Generationsdauerwerte für 0° und 25° zu Grunde, so ergibt sich hieraus, dafs die Vermehrung bei 25° für den Bacillus fluorescens liquefaciens —17 mal, für Bacterium A —24 mal, für Bacterium B —23 mal, für Bacterium C — 36 mal und für Bacterium D 21 mal, also durchschnittlich 24 mal so

schnell als bei 0° erfolgt. Die Tabelle VIII enthält eine Zusammenstellung der in der angegebenen Wachstumszeit gefundenen kürzesten Generationsdauerwerte für die fünf untersuchten Bakterien und gestattet für die übrigen Temperaturen denselben Vergleich mit 0° zu ziehen.

Tabelle VII.

1,0 ccm Milch enthält an Bakterien:

nach	30°	25°	12°	6°	0°
—	720 000	720 000	720 000	720 000	720 000
3 St.	1 380 000	1 860 000	—	—	—
7 »	3 244 000	3 150 000	—	—	—
10 »	6 156 000	6 840 000	1 320 000	—	—
24 »	734 400 000	820 800 000	177 400 000	4 350 000	746 000
2 Tagen	—	—	372 400 000	—	1 500 000
3 »	—	—	464 000 000	27 100 000	—
4 »	—	—	—	—	8 100 000
5 »	—	—	—	96 480 000	—
7 »	—	—	—	250 000 000	27 600 000
10 »	—	—	—	584 300 000	172 800 000
13 »	—	—	—	744 800 000	527 000 000
16 »	—	—	—	—	840 000 000
19 »	—	—	—	—	1 228 500 000
22 »	—	—	—	—	1 629 800 000

Tabelle VIII.

Bacterium	30°	25°	12°
A	46 Min. 38 Sek. nach 12 St.	51 Min. 24 Sek. n. 11 St.	115 Min. 38 Sek. n. 32 St.
B	50 » 56 » » 7 »	53 » 9 » » 7 »	190 » 30 » » 36 »
C	46 » 15 » » 8 »	53 » 48 » » 8 »	145 » 54 » » 30 »
D	44 » 42 » » 7 »	45 » 6 » » 7 »	125 » — » » 12 »
fluor. liquef.	64 » 11 » » 10 »	75 » 36 » » 24 »	138 » 54 » » 48 »

Bacterium	6°	0°
A	7 St. 36 Min. nach 96 St.	19 St. 57 Min. nach 12 Tagen
B	6 » 25 » » 108 »	19 » 48 » » 8 »
C	9 » 17 » » 144 »	33 » 38 » » 18 »
D	5 » 13 » » 60 »	15 » 55 » » 8 »
Fluor. liquef.	7 » 33 » » 96 »	21 » 26 » » 10 »

[illegible]

Der Bacillus fluorescens liquefaciens zeigt [illegible] wie [illegible] auch anderen Bakterien mehr oder minder [illegible] den eigenartigen Verhalten, das auch M. Müller[?] und Hehewerth[?] gelegentlich der Ausführung von Generationsdauerbestimmungen beim Bacterium typhi beobachtet haben. Es findet nämlich, speziell beim Überimpfen aus älteren Kulturen in frische Bouillon, eine Zeitlang nicht nur keine Vermehrung, sondern sogar eine mehr oder minder starke Verminderung der Anzahl lebender Bakterien statt. A. Fischer[?], welcher zahlreiche Bakterien, darunter auch den Bac. fluor. liquef., auf dieses Verhalten geprüft hat, bezeichnet diesen eigenartigen Vorgang »als eine durch osmotische Störungen bedingte Plasmolyse bezw. Plasmoptyse«, und teilt hiernach die Bakterien ein in solche, welche sich plasmolysieren, und solche, die sich nicht plasmolysieren lassen.

Die folgenden Zahlen, welche gelegentlich eines Generationsdauerversuches gefunden worden sind, veranschaulichen dieses eigenartige Verhalten gewisser Bakterien in einer eklatanten Weise für den Bacillus fluorescens liquefaciens.

(Siehe Tabelle IX auf S. 39.)

Die auffallende Abnahme der Anzahl der lebenden Bakterien bei diesem Versuche findet in Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen ihre hauptsächliche Ursache darin, dafs infolge eines Unfalles bei der 24stündigen Bouillonkultur aus einer drei Tage alten Bouillonkultur zum Zwecke der Generationsdauerbestimmung übergeimpft wurde. Dafs das Auftreten dieser



Erscheinungen ganz wesentlich durch das Alter der Kulturen bedingt wird, ergibt sich aus der Tabelle V. Hier ist eine Verminderung der Anzahl lebender Bakterien infolge des Überimpfens aus einer jungen Kultur nur bei 0° in geringem Mafse zu beobachten.

Tabelle IX.

Zeit nach der Impfung	Anzahl der lebenden Bakterien in 1 ccm Bouillon	Temperatur
—	61 700	
10 Min.	59 300	
1 St.	53 300	
2 »	41 500	30°
3 »	32 900	
4 »	34 300	
5 »	75 000	
6 »	191 300	
—	61 700	
15 Min.	60 400	
1 St	57 900	
2 »	57 140	25°
3 »	51 430	
4 »	51 400	
5 »	60 000	
6 »	72 000	
—	61 700	
20 Min.	57 770	12°
2 St.	48 150	
4 »	40 500	
6 St.	31 430	
8 »	30 000	
10 »	34 300	12°
12 »	40 000	
24 »	7 300 000	
—	61 700	
25 Min.	58 500	
4 St.	48 150	
8 »	34 100	6°
12 »	46 000	
24 »	49 000	
28 »	71 300	
32 »	120 000	
—	61 700	
30 Min.	58 600	
24 St.	52 600	
2 Tage	45 500	0°
3 »	37 000	
4 »	49 000	
5 »	124 000	

d) Die untere Grenze für das Wachstum der Bakterien liegt jedenfalls unterhalb einer Temperatur von 0°. Leider konnten im hiesigen Institute noch keine Einrichtungen getroffen werden, welche es zum Zwecke der Bestimmung dieses Temperaturminimums ermöglicht hätten, auf längere Zeit hin beliebige konstante Temperaturen unter 0° herzustellen.

Mit Rücksicht auf späterhin zu ziehende Schlufsfolgerungen schien es jedoch angebracht, einmal die Frage zu prüfen, wie

sich die glacialen Bakterien gegenüber der Einwirkung mäfsiger Kältegrade verhalten würden.

Nach den Untersuchungen von Pictet und Joung[24]), Macfadyen[25]), Prudden[26]), Brehme[27]) u. a. erfolgt durch die Einwirkung der Kälte, je nach der Bakterienart, eine schnellere oder langsamere Abnahme der Anzahl lebender Individuen, während das Abtöten sämtlicher Bakterien nicht einmal durch eine intensive und lang andauernde Kälteeinwirkung erzielt werden kann. Als besonders geeignet zu einem Versuche in der Kälte schienen diejenigen Bakterien, welche bei 0° die kürzeste Generationsdauer zeigten. Von diesen Bakterien konnte angenommen werden, dafs sie sich am resistentesten gegen die Kälte verhalten würden. Um bei diesem Versuche die Anzahl der jeweiligen lebenden Bakterien feststellen zu können, wurde in folgender Weise verfahren:

Das der Kälteeinwirkung auszusetzende Bacterium wird in geringer Menge auf ca. 8 ccm Bouillon übergeimpft, und die Flüsstigkeit sodann gut durchmischt. Unmittelbar nach der Anfertigung einer Zählplatte werden je 2 ccm in eine Anzahl Reagensgläser steril überpipettiert, und diese sofort einer andauernden Kälteeinwirkung von — 2 bis — 12° ausgesetzt. Nach gewissen Zeiten wird dann immer je ein Röhrchen auf die Anzahl der vorhandenen lebenden Mikroorganismen (falls die Bouillon gefroren ist, sofort nach dem Auftauen) geprüft. Die folgende Tabelle gibt die mit den Bakterien B und D gewonnenen Resultate wieder:

Tabelle X.

Zeit nach d. Impfung	Anzahl der in 81 mg vorhandenen Bakterien	
	Bacterium B	Bacterium D
—	1140	720
3 Tage	420	46
5 »	57	—
7 »	3	—

Die nach erfolgter Anlage der Zählplatten bei 25° aufbewahrten Bouillonröhrchen lassen anfangs innerhalb von 2 Tagen, späterhin erst nach drei Tagen eine deutliche Trübung erkennen und zwar auch in den Fällen, in welchen sich das Rollröhrchen als steril erwies.

Es wird demnach auch bei den glacialen Bakterien durch die Einwirkung mäfsiger Kältegrade sowohl die Vermehrungsfähigkeit sistiert als auch ihre Lebensfähigkeit stark beeinträchtigt.

III.

Unter den durch die Lebenstätigkeit der Bakterien hervorgerufenen Zersetzungsprozessen beansprucht die Fäulnis das gröfste hygienische Interesse.

Es soll demgemäfs in diesem Abschnitte untersucht werden, ob auch bei einer Temperatur von 0^0 noch Spaltungsprozesse in organischen Substanzen stattfinden, welche mit der Fäulnis übereinkommen.

Bei dem komplizierten und ungeklärten Wesen des Fäulnisprozesses mufs sich dieser Abschnitt auf einige fundamentale Untersuchungen beschränken.

Die Fäulnis besteht in dem Abbau N-haltiger, hauptsächlich eiweifsartiger Substanzen zu einfacheren chemischen Verbindungen durch die Lebenstätigkeit der sogen. Fäulnisbakterien. Ebenso wie die Zahl dieser Bakterien eine mannigfaltige und grofse ist, sind auch die infolge der Fäulnisprozesse auftretenden Produkte von verschiedener chemischer Konstitution: NH_3; CO_2; H_2S; CH_4; aromatische Stoffe; N-haltige Säuren u. a. m. Von diesen Körpern können NH_3 und CO_2 als konstant vorkommend betrachtet werden. Die Zunahme dieser Körper in eiweifshaltigen Materialien durch die Lebenstätigkeit von Bakterien deutet demnach auf den Ablauf solcher Prozesse, welche mit der Fäulnis in ätiologischem Zusammenhange stehen. Inwieweit auch bei

0^0 eine Zunahme von NH_3 und CO_2 durch Bakterientätigkeit nachzuweisen ist, sollen die folgenden Versuche ergeben.

Es ist zwar bekannt, daſs eine Hauptgruppe der Fäulnisbakterien — die Proteusgruppe — bei einer Temperatur von 0^0 nicht mehr zu wachsen vermag; indes sind ja die Fäulnisbakterien von einer solchen Mannigfaltigkeit der Art, daſs man auch unter den bei 0^0 wachsenden Bakterien nach Repräsentanten der Fäulniserreger suchen darf. Schon das kulturelle Verhalten eines Bacteriums gestattet, seine Zugehörigkeit zur Gruppe der Fäulniserreger zu erkennen. Die Peptonisierung der erstarrten Gelatine, der Milch und des festen Blutserums sowie das Auftreten stinkender Produkte in diesen Nährmedien sind charakteristische Merkmale für die eiweiſsabbauende Fähigkeit des betreffenden Bakteriums. Daſs auch unter den glacialen Bakterien Vertreter dieser Gruppe zu finden sind, ergibt sich aus ihren oben angeführten Eigenschaften, wonach sie mit Ausnahme des Bacteriums D sämtlich ihr Nährmaterial stark zersetzen. Fernerhin ist es auch von der Fluoreszens-Gruppe, die in 5 verschiedenen Rassen bei 0^0 wachsend gefunden wurde, bekannt, daſs diese Bakterien fast regelmäſsig in faulenden Substraten nachzuweisen sind und auch zersetzend in Tätigkeit treten.

Da sich das freie Ammoniak als solches nur schwer quantitativ nachweisen läſst, so wurde statt dessen die Menge des durch Magnesia usta abspaltbaren und als Ammoniak überdestillierenden Stickstoffes, der der Menge des vorhandenen freien Ammoniakes annähernd entspricht, bestimmt. Als eiweiſshaltiges Nährsubstrat diente die gewöhnliche Löfflersche Bouillon. Zunächst wurde folgender Vorversuch angestellt:

Ein Erlenmayerscher Kolben mit ca. 150 ccm Bouillon wird mit einer Öse einer Bouillonkultur des Bacillus fluoreszens liquefaciens geimpft. Unmittelbar nach der Impfung, am 6. und 10. Tage wird mit je 20 ccm Bouillon die Menge des als NH_3 abspaltbaren N, sowie mit je 10 ccm der Gesamt-N nach der Kjeldahlschen Methode bestimmt. Der Kolben wurde im Brutschrank bei 25^0 aufbewahrt.

Das Resultat war folgendes:

100 ccm Bouillon enthalten:

a) als NH_3 abspaltbaren N

unmittelbar nach der Impfung	17,42 mg
nach 6 Tagen	44,38 »

b) Gesamt-N

unmittelbar nach der Impfung	353,52 mg
nach 6 Tagen	360,49 »
» 10 »	362,23 »

Die Kontrollen zeigen nur in die Fehlergrenze fallende Differenzen.

Die unter a) erhaltenen Resultate entsprechen den gehegten Vermutungen.

Der Gesamt-N wurde aus dem Grunde bestimmt, um eventuell aus einer Abnahme desselben auf die Bildung flüchtiger N-haltiger Körper schliefsen zu können. Das diesbezügliche Resultat unter b) spricht augenscheinlich für das Gegenteil. Bevor man wegen der Zunahme von etwa 8 mg N an eine Assimilation von N denken konnte, mufsten vernachlässigte Fehlerquellen eruiert werden. Eine kurze Überlegung gab denn auch die Erklärung für die auffallende Zunahme des Gesamt-N. Dieselbe war verursacht durch eine infolge Verdunstung eingetretene Konzentration der Bouillon. Die Richtigkeit dieser Annahme ergibt sich aus den weiteren Versuchen. Um diese Fehlerquelle förderhin zu vermeiden, wurden die Kolben stets mit einer Gummikappe luftdicht verschlossen gehalten. Die Kontrolle auf eventuell erfolgende Verdunstung durch Wägung ergab denn auch, dafs jetzt die Gewichtsdifferenzen innerhalb zweier Tage höchstens in Zentigrammen schwankten.

Bei den weiteren Versuchen wurde folgende Methodik angewendet:

a) 25° — Ein Kolben wird zu $^4/_5$ mit ca. 350 ccm Bouillon gefüllt, mit 81 mg einer 24stündigen Bouillonkultur geimpft, luftdicht mittels Gummikappe verschlossen und sodann ständig bei 25° gehalten.

b) 0° — Ein Kolben mit ca. 200 ccm Bouillon wird in der gleichen Weise wie bei a) geimpft, luftdicht verschlossen, zunächst 24 Stunden bei 25° belassen und sodann bei 0° verbracht. Nach weiterem 24stündigen Verweilen des Kolbens bei 0° zum Zwecke völliger Abkühlung wird dann die erste Bestimmung vorgenommen. Dieses abweichende Verfahren für 0° wurde angewandt, um die Versuche nicht über allzu lange Zeit ausdehnen zu müssen.

Zur Bestimmung des als NH_3 abspaltbaren N wurden bei 25° alle zwei, bei 0° alle 4 Tage je 20 ccm und zur Bestimmung des Gesamt-N in den gleichen Zeiträumen je 10 ccm steril und mit stets gleicher Pipette entnommen. Der als NH_3 abspaltbare N wird mittels MgO aus schwach alkalischer Lösung durch Destillation ausgetrieben; der Gesamt N wird nach der Kjeldahlschen Methode bestimmt. Als Vorlage diente bei der Destillation in beiden Fällen eine Schwefelsäure mit bekanntem Baryttiter. Aus der Abnahme des Baryttiters unter Zusatz von Lackmus als Indikator konnte der N-gehalt des Destillates direkt berechnet werden.

Tabelle XI.

Bacterium fluorescens liquefaciens.

Alter der Bouillon	100 ccm Bouillon enthalten (N in mg angegeben) 25° abspaltbaren N	25° Gesamt-N	0° abspaltbaren N	0° Gesamt-N
Tage				
—	16,54	330,89	38,31	320,44
2	21,77	330,89		
4	23,51	325,66	38,31	322,18
6	24,36	327,40		
8	34,83	325,66	40,05	320,44
10	40,05	323,92		
12	49,63	325,66	41,80	318,69
14	69,14	320,44		
16	68,27	322,18	41,80	320,44
20	—	—	43,54	320,44

Tabelle XII.

Bacterium A.

Alter der Bouillon	100 ccm Bouillon enthalten (N in mg angegeben) 25° abspaltbaren N	25° Gesamt-N	0° abspaltbaren N	0° Gesamt-N
Tage				
—	16,54	330,86	38,31	323,92
2	18,29	330,86		
4	24,42	325,66	38,31	320,44
6	35,70	323,92		
8	41,80	325,66	38,31	320,44
10	39,01	323,92		
12	45,28	323,92	40,93	322,18
14	57,47	323,92		
16	50,50	320,44	41,80	320,44
20	—	—	41,80	322,18

Tabelle XIII.
Bacterium B.

Alter der Bouillon	100 ccm Bouillon enthalten (N in mg angegeben) 25° abspaltbaren N	25° Gesamt-N	0° abspaltbaren N	0° Gesamt-N
Tage				
—	15,67	287,35	22,62	283,86
2	21,77	285,61		
4	24,38	287,35	22,62	285,61
6	26,12	285,61		
8	31,15	287,35	23,51	282,82
10	46,15	285,61		
12	57,47	283,87	24,38	283,86
14	73,14	285,61		
16	85,33	282,12	25,25	283,86
18	104,49	278,64		
20	—	—	27,86	—

Tabelle XIV.
Bacterium C.

Alter der Bouillon	100 ccm Bouillon enthalten (N in mg angegeben) 25° abspaltbaren N	25° Gesamt-N	0° abspaltbaren N	0° Gesamt-N
Tage				
—	15,67	285,61	22,62	282,12
2	20,03	287,35		
4	22,64	285,61	22,62	283,86
6	27,86	289,09		
8	33,96	287,35	23,51	283,86
10	52,25	285,61		
12	67,92	283,87	24,38	282,12
14	76,63	283,87		
16	83,59	282,12	24,38	282,12
18	95,78	280,38		
20	—	—	24,38	—

Sämtliche bei 25° gehaltene Kolben zeigen nach 6—8 Tagen einen intensiven, an faulen Käse erinnernden Geruch, der während der ganzen Beobachtungszeit bei 0° nicht zu bemerken ist. Immerhin ist aber aus den Tabellen zu ersehen, dafs auch bei 0° noch eine nachweisbare Stickstoffabspaltung erfolgt, die natürlich entsprechend dem langsamer erfolgenden Wachstum als bei 25° — auch entsprechend geringer ist.

Die Menge des Gesamt-N bleibt bei 0° während der ganzen Versuchsdauer bei allen Bakterien konstant, während bei 25° eine geringe Abnahme desselben erfolgt. Für die Bildung flüchtiger N-haltiger Substanzen bei 25° spricht auch das Auftreten intensiver Geruchskörper gegen Ende des Versuches.

Die Verschiedenheit in den anfänglichen N-Werten für 25° und 0° findet darin ihre Ursache, dafs die Versuchsreihen nicht nebeneinander ausgeführt werden konnten, und dafs infolgedessen meistens eine andere Bouillon benutzt werden mufste.

Die Bildung von CO_2 durch Bakterien wurde in folgender Versuchsanordnung quantitativ bestimmt:

In einem kleinen Erlenmayerschen Kolben von ca. 300 ccm Fassungsvermögen befinden sich ca. 120 ccm Bouillon, welche

mit 81 mg einer 24stündigen Bouillonkultur · geimpft werden. Durch diese Bouillon wird nach dem Prinzipe einer Waschflasche sofort die 6fache Menge des Kolbenvolumens CO_2-freie Luft gesogen, wodurch sämtliche im Kolben befindliche CO_2 ausgetrieben wird. Indem die Luft vor dem Eintreten in den Kolben und nach dem Austreten aus dem Kolben durch Waschflaschen mit Barytwasser geleitet wird, erhält man in der Waschflasche, durch welche die aus dem Kolben kommende Luft hindurchtreten mufs, diejenige CO_2, welche durch das betreffende Bacterium gebildet worden ist. Die Menge dieser CO_2 wird bei 25° alle 24 Stunden bestimmt.

Zu den Versuchen bei 0° wird der geimpfte Kolben zunächst 24 Stunden bei 25° gehalten und sodann bei 0° verbracht. Nach weiterem 24stündigen Verweilen des Kolbens bei 0° behufs vollständiger Annahme dieser Temperatur wird die vorhandene CO_2 vollständig entfernt, und hierauf in Zeiträumen von je 24 oder 48 Stunden die Menge der gebildeten CO_2 bestimmt.

Aus der Abnahme des Titers der Barytlösung mittels einer bekannten Oxalsäure unter Hinzufügung von Phenolphthalein als Indikator läfst sich die Menge der gebildeten CO_2 berechnen, die in den Tabellen XV—XVIII in ccm angegeben ist.

Tabelle XV.

Bacillus fluorescens liquefaciens		
	25°	0°
am	ccm CO_2	ccm CO_2
1. Tage	4,50	1,13
2. »	6,75	2,18
3. »	7,75	2,63
4. »	8,75	2,75
5. »	10,25	2,63
6. »	11,13	2,75
7. »	11,00	2,75
8. »	12,13	2,75
9. »	12,38	3,13
10. »	12,25	3,25
11. »	12,25	2,75
12. »	12,00	2,63
13. »	11,13	2,63
14. »	10,75	2,50

Tabelle XVI.

Bacterium A		
	25°	0°
am	ccm CO_2	ccm CO_2
1. Tage	2,75	1,13
2. »	3,75	2,50
3. »	5,25	
4. »	6,25	2,75
5. »	8,0	
6. »	9,75	3,13
7. »	11,13	
8. »	13,0	3,50
9. »	14,25	
10. »	14,50	3,50
11. »	14,25	
12. »	13,50	1,75
13. »	12,75	1,88
14. »	10,75	1,88

Tabelle XVII.

Bacterium B	25°	0°
am	ccm CO_2	ccm CO_2
1. Tage	14,75	3,0
2. »	23,75	3,13
3. »	28,0	3,0
4. »	23,25	3,25
5. »	24,25	3,13
6. »	23,75	3,25
7. »	22,0	3,38
8. »	23,75	3,5
9. »	22,75	3,38
10. »	24,50	3,63
11. »	19,50	3,75
12. »	17,0	3,80
13. »	16,75	3,80
14. »	13,0	4,13

Tabelle XVIII.

Bacterium C	25°	0°
am	ccm CO_2	ccm CO_2
1. Tage	5,50	1,13
2. »	6,75	2,0
3. »	6,38	
4. »	6,75	2,13
5. »	7,0	
6. »	6,63	2,13
7. »	7,0	
8. »	7,25	2,25
9. »	7,50	
10. »	7,50	2,55
11. »	7,25	
12. »	7,50	2,55
13. »	7,38	
14. »	7,50	2,55
15. »	6,75	
16. »	7,25	1,13

Aus diesen Versuchsreihen geht hervor, dafs auch bei 0° noch eine deutliche CO_2-Bildung stattfindet.

Da der zur Bildung der CO_2 nötige Kohlenstoff nur den organischen Bestandteilen der Bouillon entnommen werden konnte, so müssen auch hier Spaltungsprozesse abgelaufen sein.

Die Tabellen lassen fernerhin eine individuelle Verschiedenheit der Bakterien bezüglich ihres Verhaltens zur CO_2-Bildung erkennen.

Da das Bacterium A in seinen Kulturen eine intensive H_2S-Produktion zeigte, so schien es der Mühe wert, auch diesen Prozefs einer Prüfung bei 0° zu unterziehen. Die Methodik zur quantitativen Bestimmung des H_2S war die gleiche wie diejenige bei der CO_2-Bestimmung; nur wurde als absorbierendes Reagens für den H_2S anstatt der Barytlösung eine $\frac{N}{10}$ Jodkaliumlösung verwendet. Aus der Abnahme des Titers der $\frac{N}{10}$ Jodkaliumlösung mittels $\frac{N}{10}$ Natriumthiosulfatlösung unter Zusatz von

Stärkekleister als Indikator konnte die Menge des in einer gewissen Zeit gebildeten H_2S berechnet werden.

Tabelle XIX.

Bacterium A		
	25°	0°
am	ccm H_2S	ccm H_2S
1. Tage	2,13	
2. »	2,76	1,06
3. »	1,70	
4. »	1,28	
5. »	1,06	0,85
6. »	1,28	
7. »	1,28	
8. »	1,06	0,85
9. »	0,85	
10. »	0,64	
11. »	1,06	
12. »		0,85
13. »	1,28	
14. »		

Die auch bei 0° nachzuweisende H_2S-Abspaltung zeigt ebenso wie die Abspaltung bei 25° die Eigentümlichkeit, dafs die Menge des gebildeten H_2S zu Beginn des Versuches am gröfsten ist. Dieses Verhalten findet wohl darin seine Erklärung, dafs der Schwefel des Eiweifsmoleküls nur zum Teil leicht abspaltbar ist. Infolgedessen wird zu Beginn des Versuches die Menge des leicht abspaltbaren S, und somit auch die Menge des gebildeten H_2S am gröfsten sein.

Die Nachweisbarkeit einer NH_3-, CO_2- und H_2S-Abspaltung bei 0° gestattet die Schlufsfolgerung, dafs auch bei 0° sich Zersetzungsprozesse abspielen, welche mit der Fäulnis übereinstimmen.

IV.

a) Die zersetzende Tätigkeit der Bakterien beruht indirekt auf Fermentationen. In der gleichen Weise wie die Bakterienzelle ist auch die tierische Zelle zur Bildung von Fermenten befähigt, welche in ganz ähnlicher Weise wie die Bakterien organische Substanzen zu zersetzen vermögen. Inwieweit diese tierischen Fermente auch bei 0° Spaltungsprozesse hervorzurufen vermögen, soll durch die folgenden Versuche gezeigt werden.

Da die Zersetzungsprozesse des Fischfleisches bei niederer Temperatur späterhin einer hygienischen Betrachtung unterzogen werden sollen, so schien es angebracht, im speziellen die Wirksamkeit der aus den Fischen extrahierbaren Fermente bei 0° zu prüfen.

In der Literatur finden sich einige zum Teil widersprechende Angaben über das Verhalten der Verdauungsfermente der Fische bei niederer Temperatur:

Hoppe-Seyler[28]) stellte zuerst Verdauungsversuche mit dem Extrakte der Magenschleimhaut des Hechtes an und fand bei 15° eine schnellere Verdauung der Fibrinflocke als bei 40°. Die schnellste Verdauung trat bei ungefähr 20° ein. Wurde die Temperatur bis auf einige Grade über Null herabgesetzt, so fand sich immerhin noch keine Vernichtung der peptonisierenden Kraft, wenngleich die Einwirkung eine geringere als bei 15° war.

Im Gegensatz zu Hoppe Seyler fanden Krukenberg[29]) und Luchau[30]) die Wirkung des peptischen Fermentes der

Fische bei 40° stärker als bei 15°. Während Luchau meinte, dafs das peptische Ferment der Fische das der Warmblüter darin an Wirksamkeit übertreffe, dafs es bei einer Temperatur noch wirke, bei welcher das Ferment höherer Tiere nicht mehr tätig sei und zerstört würde, widerlegte Krukenberg diese Ansicht, indem er nachwies, dafs Luchau quantitative Differenzen in der Wirksamkeit verschiedener Enzymlösungen für qualitative angesehen habe, und dafs in keiner Weise Unterschiede in der Wirksamkeit des peptischen Fermentes der Fische und desjenigen der Warmblütler zu konstatieren seien.

Fick und Murisier[31]) geben an, dafs der Magensaft von Hecht und Forelle noch bei 0° regelmäfsig lösend auf geronnenes Eiweifs wirke.

M. Flaum[32]), welcher auf Veranlassung Kroneckers den Einflufs niedriger Temperaturen auf die Funktionen des Magens prüfte, fand gleichfalls, dafs bei 0° ohne Ausnahme eine peptische Verdauung erfolgte.

Da es nicht der Zweck dieser Untersuchungen war, die Wirkungsweise der Fermente selbst näher zu untersuchen, so konnten wir uns auf die einfachsten Versuche beschränken.

Pepsinversuche:

1. Die fein zerkleinerte Schleimhaut eines Hechtmagens wird 48 Stunden lang mit 25 ccm Glycerin digeriert, und das Gemenge hierauf filtriert. Zu je 10 ccm 0,25proz. HCl-Lösung wird 1 ccm des Filtrates hinzugefügt, und nachdem die Röhrchen auf 24°, 8° und 0° gebracht worden waren, erhält jedes eine ca. 100 mg schwere Fibrinflocke. Die Kontrollröhrchen erhalten kein Extrakt.

Tabelle XX.

Fibrinflocke ist verdaut:

bei 24°	nach	40	Minuten		Kontrollröhrchen ohne Glycerin-
» 8°	»	100	»		extrakt zeigen nur eine Quellung
» 0°	»	230	»		der Fibrinflocke.

Da in diesem Versuche Profermente nicht in Wirkung treten konnten, so wurde versucht, durch Digeration mit verdünnter HCl ein wirksameres Extrakt zu erhalten.

2. Zu diesem Zwecke wird die Schleimhaut eines Hechtmagens mit ca. 25 ccm 0,25proz. HCl-Lösung 12 Stunden lang digeriert, das Gemenge filtriert und sodann in gleicher Weise wie beim vorigen Versuch verfahren. Die Kontrollröhrchen erhalten kein Extrakt.

Tabelle XXI.

Fibrinflocke ist verdaut:

bei 24^0	nach	20	Minuten	Kontrollröhrchen ohne HCl-Extrakt zeigen nur eine Quellung der Fibrinflocke.
» 8^0	»	65	»	
» 0^0	»	140	»	

Das peptische Ferment zeigt demnach auch bei 0^0 eine unerwartet rasche Wirkung, welche allerdings in Übereinstimmung mit früheren Befunden bei 0^0 schwächer ist als bei höherer Temperatur.

Zur Erhaltung eines tryptischen Fermentextraktes wurde der Darmtractus magenloser Fische, welcher nach den Untersuchungen Krukenbergs[33]) und Luchaus[34]) kein peptisches Ferment enthalten soll, in folgender Weise behandelt:

Der gereinigte Darmtractus eines fünfpfündigen Karpfens wird zerkleinert und mit 75 ccm einer 50proz. Glycerinlösung übergossen. Nach 24stündigem Digerieren bei gewöhnlicher Temperatur wird das Gemenge filtriert. Von dem klaren Filtrate werden zu je 10 ccm einer 1proz. Sodalösung 2,5 ccm hinzugefügt und die Röhrchen auf die gewünschten Temperaturen gebracht. Hierauf erhalten drei Röhrchen je ein gleich grofses Stück Nährgelatine und drei Röhrchen je eine Fibrinflocke von 100 mg. Die Kontrollröhrchen erhalten das gleiche, vorher auf 100^0 erhitzte Glycerinextrakt.

Tabelle XXII.

Gelatine ist aufgelöst:

bei 20^0	nach	$2^3/_4$	Stunden
» 8^0	»	16	»
» 0^0	»	34	»

Fibrin ist aufgelöst:

bei 20^0	nach	$5^1/_4$	Stunden
» 8^0	»	31	»
» 0^0	»	72	»

Sämtliche Kontrollröhrchen bleiben unverändert.

Das tryptische Ferment zeigt also bei 0° gleichfalls noch eine deutliche Wirkung.

Die Prüfung der Wirksamkeit des diastatischen Fermentes, welches nach den Untersuchungen Krukenbergs[35]) in der Leber der Cyprinoiden gebildet wird, wurde auf folgende Weise vorgenommen:

Die Leber eines fünfpfündigen Karpfens wird im Mörser zerrieben, mit 75 ccm einer 50proz. Glycerinlösung übergossen, und das Gemenge nach 24stündigem Digerieren filtriert. Von diesem Extrakte werden 5 ccm zu je 25 ccm eines 1proz. filtrierten Stärkekleisters, welcher vorher auf die gewünschte Temperatur gebracht wird, hinzugefügt und von Zeit zu Zeit mit je 2 ccm dieser Flüssigkeit Jodreaktionen angestellt. Die Kontrollröhrchen werden in der gleichen Weise mit je 5 ccm des vorher auf 100° erhitzten Extraktes angesetzt.

Tabelle XXIII.

Temperatur	Opaleszenz verschwunden nach	Jodreaktion nach verschwundener Opaleszenz	Rotfärbung bei Jodzusatz nach	Durch Jod keine Färbung mehr hervorzurufen nach
25°	1¼ Min.	violett	3¼ St.	8½ St.
8°	5 »	»	18 »	44 »
0°	20 »	»	32 »	72 »

In den Kontrollröhrchen verschwindet die Opaleszenz nicht; die Jodreaktion ergibt eine tief dunkelblaue Färbung während der ganzen Versuchsdauer.

Es erfolgt also auch bei 0° durch die Einwirkung des diastatischen Fermentes eine vollständige Umwandlung der Stärke in Zucker.

Das Labferment erwies sich in allen Fermentextrakten als vorhanden, was nach den neueren Untersuchungen Pawlows leicht erklärlich ist.

Zu den folgenden Versuchen wurde die Schleimhaut eines Hechtmagens fein zerkleinert, zerrieben und mit 75 ccm einer 0,25proz. HCl-Lösung übergossen. Nach 24stündigem Digerieren wird das Gemenge durch Leinwand koliert.

Zunächst wurden zu je 5 ccm ungekochter Milch, welche vorher auf die gewünschte Temperatur gebracht worden war, 5 Tropfen dieses Extraktes hinzugefügt und sodann die Zeit bis zur deutlichen Gerinnung bestimmt.

Tabelle XXIV.

Gerinnung tritt ein:

bei	40°	nach	2 Min.
»	25°	»	5½ »
»	15°	»	25 »
»	7°	»	ca. 18 Stunden
»	0°	tritt keine deutliche Gerinnung ein;	

jedoch erkennt man nach 5 Tagen bei langsamem Schwenken des Röhrchens eine feinflockige Beschaffenheit der Milch. Von der Kuppe des Röhrchens aus beginnt die Milch sich späterhin langsam aufzuhellen. Nach 20 Tagen besteht der Inhalt des Röhrchens aus einer klaren, grünen Flüssigkeit, auf deren Oberfläche eine weifse, dicke Fettschicht liegt. Das Nichteintreten einer deutlichen Gerinnung und das Aufhellen der Milch erklärt sich anscheinend aus der gleichzeitigen Pepsinwirkung des Extraktes.

Nach den Untersuchungen Fulds[36]) u. A. setzt sich die Gerinnungszeit einer mit Lab versetzten Milch aus zwei Summanden zusammen: 1. der Zeit, deren es bedarf, damit das Kasein annähernd in Parakasein übergeht: der Umwandlungszeit und 2. der Zeit, welche zur Ausscheidung des sichtbaren Labgerinnsels erforderlich ist: der Ausscheidungszeit. Da die letztere Gröfse, die Ausscheidungszeit, nach weiteren Untersuchungen Fulds bei niederer Temperatur bis zu mehreren Tagen braucht, um vollkommen in Erscheinung zu treten, während dieselbe bei höherer Temperatur in einigen Minuten und weniger verläuft, so wurde, um die Labwirkung bei 0° besser veranschaulichen zu können, der Versuch so angeordnet, dafs nur die I. Phase der Labwirkung bei 0° verläuft, während die II. Phase bei höherer Temperatur zum Ausdruck gebracht wird.

Zu diesem Zwecke wurde die Lablösung so verdünnt, dafs 5 ccm Milch von 0° + 1 ccm Lab von 0°, sofort nach Zusatz

des Labes bei 40° (Wasserbad) gebracht, nach 7 Minuten gerinnen. Je länger die in gleicher Weise angesetzten Röhrchen bei 0° gehalten werden, um so mehr wird sich die Zeit verringern, welche nötig ist, damit diese Röhrchen bei 40° gerinnen, wie dies aus der folgenden Tabelle hervorgeht:

Tabelle XXV.

Je 5 ccm Milch von 0° + 1 ccm Lab von 0° aufbewahrt bei 0°:	Gerinnung bei 40° nach:
0 Min.	7 Min.
10 »	6½ »
20 »	5½ »
30 »	4¾ »
45 »	4 »
60 »	2 »
75 »	1 » 50 Sek.
90 »	1 » 45 »
105 »	1 » 10 »
120 »	55 »
150 »	45 »
24 Stdn.	45 »
48 »	45 »
96 »	45 »
	50 »*)

Die Erscheinung, dafs Milch, welche mit Lab versetzt bei 0° aufbewahrt worden war, beim Erwärmen sofort gerinnt, hat Morgenroth[37]) bereits beobachtet.

Die gleiche Versuchsreihe läuft bei 15° und 40° innerhalb folgender Zeiten ab:

Tabelle XXVI.

Milch mit Lab von 15°, aufbewahrt bei 15°:	Gerinnung bei 40° nach:
0 Min.	6 Min.
5 »	5 »
10 »	2½ »
15 »	1¾ »
30 »	55 Sek.
35 »	35 »
40 »	16 »
45 »	ist bereits bei 15° geronnen.

*) Gerinnung wird infolge feinflockigen Ausfallens des Käses schwer erkennbar.

Es läuft also die eigentliche Labwirkung auch bei 0° noch mit einer gewissen Intensität ab.

Gemäfs den Resultaten sämtlicher Versuchsreihen ergibt sich die Schlufsfolgerung, dafs eine Temperatur von 0° nicht im stande ist, den Ablauf fermentativer Prozesse zu behindern.

Dieses Resultat wird in gleicher Weise durch die Beobachtungen über den Ablauf der durch Bakterien bedingten fermentativen Prozesse bestätigt. (Peptonisierung der Gelatine und Traubenzuckervergärung bei 0°.)

b) Im Anschlusse an die Untersuchungen über die Wirksamkeit der Verdauungsfermente bei 0° möge jener eigenartige Zersetzungsprozefs des Fleisches eine eingehendere Betrachtung finden, welchen man im täglichen Leben als das »Reifen« des Fleisches bezeichnet.

Es ist eine allgemein bekannte Tatsache, dafs das in den Kühlhäusern bei einer Temperatur von + 3 bis + 5° Celsius aufbewahrte Fleisch eine eigenartige und auffällige Veränderung erfährt, indem aus dem anfangs zähen, trockenen und unschmackhaften Muskelgewebe ein mürbes, saftiges und wohlschmeckendes Fleisch entsteht.

Über das Wesen dieses sogen. Reifungsprozesses hat man sich vielfach einer völlig irrigen Meinung hingegeben, indem man denselben als beginnende Fäulniserscheinung betrachtete, obwohl diese Ansicht bei näherer Prüfung den tatsächlichen Verhältnissen völlig widersprach. Da einerseits die kalte und gleichzeitig trockene Luft der Kühlräume kaum ein Bacteriumwachstum aufkommen läfst, und da anderseits nach den Untersuchungen von Prof. Forster und Presuhn[38]) das Eindringen von Bakterien — selbst unter den günstigsten Verhältnissen — innerhalb sechs Tagen auf kaum mehr als 1 cm Tiefe erfolgt, so müfsten bei der Annahme einer Bakterienwirkung nur die oberflächlichen Schichten dem Reifungsprozesse anheimfallen, während in Wirklichkeit selbst die kompaktesten Muskelmassen in toto diesem Prozesse in kurzer Zeit und bei niederer Temperatur unterliegen.

Dieses eigenartige Verhalten aus Erfahrung kennend, hatte Prof. Forster[39]), in Übereinstimmung mit den Anschauungen

du Bois-Reymonds und anderer Physiologen, bereits vor Jahren seine Ansicht über das Reifen des Fleisches dahin ausgesprochen, dafs die Ursache dieses Prozesses in einer fermentativen Wirkung zu suchen sei.

Nachdem Nencki und Sieber[40]) und Salkowski[41]) dargelegt hatten, dafs auch bei vollkommenem Ausschlusse der Fäulnis postmortal eine Spaltung der Eiweifsstoffe in tierischen Organen auf fermentativem Wege erfolgt, fand diese Ansicht eine weitere Bestätigung.

In den folgenden Versuchen soll nun geprüft werden, ob der von Salkowski als Autodigestion, von Jacobi[42]) als Autolyse bezeichnete fermentative Prozefs auch bei einer Temperatur von 0^{0} noch am Fleisch vom Fisch und Säugetier abläuft, und ob derselbe mit dem bei niederer Temperatur erfolgenden Reifen des Fleisches in kausalem Zusammenhange steht.

Der Ablauf des autolytischen Prozesses am Fischfleische hatte gleichfalls ein besonderes praktisches Interesse. Die schnelle Zersetzung der Fische ist eine bekannte Tatsache und bedingt eine baldige Genufsuntauglichkeit des Fleisches derselben. Nach Untersuchungen Schmidt-Nielsens (nicht veröffentlicht) im hiesigen Institut erwies sich das Fleisch eines Karpfens nach ca. 14tägigem Aufbewahren im Eisschranke als vollkommen bakterienfrei im Innern. Trotzdem hatte der Karpfen bereits eine solche Beschaffenheit angenommen, dafs derselbe als vollkommen genufsuntauglich bezeichnet werden mufste.

Es konnte natürlich nicht unsere Aufgabe sein, die Biochemie der Autolyse des Fleisches klarzulegen, sondern für uns kamen in erster Linie hygienische Fragen in Betracht: Erleidet das Fleisch unter dem Einflusse der Autolyse eine Veränderung des Geschmackes, Geruches sowie der Konsistenz und inwieweit dürfte hierbei eine Spaltung des Muskeleiweifses in Betracht kommen?

Als besonders geeignet zur Prüfung dieser Fragen bei den Fischen scheinen diejenigen, welche ein längeres Aufbewahren infolge einer bald auftretenden Geschmacksveränderung nicht zulassen. Die Forelle, welche dieses eigentümliche Verhalten in

besonderem Maſse zeigt, war zur Zeit meiner Versuche nicht erhältlich. Infolgedessen muſsten sich die Untersuchungen auf den Barsch und Karpfen beschränken, welche sich gleichfalls infolge einer schnell eintretenden unangenehmen Geschmacksveränderung nur auf kurze Zeit nach dem Tode aufbewahren lassen.

Die Prüfung einer Autolyse an dem als Nahrungsmittel dienenden Fleische stöſst infolge der Ubiquität der Fäulnisbakterien auf gewisse Schwierigkeiten. Das Fernhalten der Fäulnis durch solche Reagentien, welche die Bakterien abtöten ohne die Wirksamkeit der autolytischen Fermente aufzuheben, konnte deshalb nicht zur Anwendung kommen, weil hierdurch die uns interessierenden hygienischen Fragen der Geschmacks- und Geruchsveränderung nicht hätten beantwortet werden können, und da fernerhin die Anwendung der Antiseptica eine nicht unerhebliche Beeinträchtigung in der Intensität des Ablaufes der autolytischen Spaltungsprozesse bewirkt. Um daher die Wirkung der Autolyse in der natürlich verlaufenden Weise und mit Rücksicht auf die zu beantwortenden hygienischen Fragen prüfen zu können, muſste ein aseptisches Verfahren zur Anwendung kommen.

Dieser Anforderung wurde zunächst durch folgende Versuchsanordnung zu genügen versucht:

Zwei Barsche von $2^1/_2$ Pfund Gewicht werden unmittelbar nach Durchtrennung des Rückenmarkes kräftig geschuppt, in Sublimatwasser abgewaschen und ausgenommen. Sodann werden in möglichst steriler Weise Kopf und Flossen abgeschnitten, die Haut vollständig abgezogen und die Wirbelsäule entfernt. Nach abermaligem Abspülen dieser Fleischmassen in Sublimatlösung und hierauf in sterilem Wasser werden dieselben zwischen Lagen sterilen Flieſspapieres getrocknet, durch eine ausgekochte Fleischmaschine getrieben, und die zerkleinerte Masse in zwei sterilen Gefäſsen aufgefangen. Diese werden bei 0° und 12° aufbewahrt. Nach bestimmten Zeiten werden gewisse Mengen des Materiales steril entnommen und auf Stickstoffgehalt, Geschmack, Geruch und Sterilität geprüft.

Tabelle XXVII.

Alter des Fleisches	N durch MgO abspaltbar von 10 g Fleisch (N in mg)	Gesamt-N von 10 g Fleisch nach Kjeldahl (N in mg)	N durch MgO abspaltbar von 10 g Fleisch (N in mg)	Gesamt-N von 10 g Fleisch nach Kjeldahl (N in mg)
	12°		0°	
—	4,84	294,60	4,84	294,60
2 Tage	6,20	293,27	—	—
3 »	7,46	291,88	5,89	291,53
4 »	9,67	292,69	—	—
5 »	—	—	5,76	290,07
7 »	—	—	7,39	294,66
9 »	—	—	6,0	290,75

Nach diesen N-Werten scheint die Menge des abspaltbaren N sowohl bei 25° als auch bei 0° zuzunehmen. Der Gesamt-N läſst infolge der Schwankungen der erhaltenen Werte keine Schluſsfolgerung ziehen.

Das bei 12° aufbewahrte Fleisch zeigt bereits nach zwei Tagen in gekochtem Zustande einen intensiv kratzenden Geschmack und einen stechenden unangenehmen Geruch. Bei 0° sind am fünften Tage die gleichen Erscheinungen zu bemerken, welche ständig an Intensität zunehmen.

Der unangenehme Geruch tritt im Magnesiadestillate ganz besonders zutage und nimmt auch hier mit dem Alter des Fleisches an Stärke zu.

Die angefertigten Platten ergeben, daſs das Material zu Beginn des Versuches als steril anzusehen ist, und daſs auch bei 0° während der ganzen Dauer des Versuches kein nennenswertes Bakterienwachstum stattgefunden hat. Das bei 12° aufbewahrte Material zeigt am dritten und vierten Tage eine Verunreinigung mit Bakterien.

Da die Schwankungen in den N-Werten durch einen gröſseren oder geringeren Wassergehalt des Fleisches bedingt sein konnten, und da sich das Material bei 12° späterhin verunreinigt erwies, so wurde versucht, auf folgende Weise bessere Resultate zu erhalten:

Ein achtpfündiger Karpfen wird unmittelbar nach dem Töten ca. 1 Minute lang gebrüht, geschuppt, Kopf, Flossen und Ein-

geweide entfernt, die Haut vollständig abgezogen und sofort ca. 5 Minuten in Sublimatwasser gelegt. Sodann wird derselbe in sterilem Wasser abgespült und in sechs annähernd gleiche Teile zerlegt. Nachdem jedes Fleischstück 2 Minuten in kochendem Wasser verweilt hat, wird jedes einzelne Stück sofort in eine sterile feuchte Glaskammer gebracht, dieselbe abgekühlt und drei Gläser bei 20° sowie drei Gläser bei 0° aufbewahrt. Zu den feuchten Kammern werden Kappengläser verwendet, welche durch eine Wattelage und Glasdeckel bakteriendicht verschlossen werden. Der Boden ist mit Sublimatwasser bedeckt. Um das Fleisch nicht mit dieser Flüssigkeit in Berührung kommen zu lassen, werden kleine Gefäſse umgekehrt in die Glaskammer eingestülpt, auf denen das Fleisch in einer erhöhten Lage gehalten wird.

Infolge einer mir zu Gesicht gekommenen Arbeit von Vogel[43]) über den Muskelsaft wurden die N-Bestimmungen mit dem durch die hydraulische Presse gewonnenen Muskelsafte dieser Fleischstücke ausgeführt.

Im Gegensatze zum Fleische der Säugetiere, welches bekanntlich unmittelbar nach dem Schlachten selbst unter Anwendung des stärksten Druckes keinen Saft auspressen läſst, gibt das Fischfleisch sofort nach dem Töten schon bei Anwendung eines nicht allzu hohen hydraulischen Druckes eine relativ groſse Menge Saft, die bei fortschreitender Autolyse noch weiterhin zunimmt. Dieser Saft ist von grauroter trüber Färbung; auf der Oberfläche scheiden sich meistens gröſsere Fettropfen ab, die jedoch durch Filtrieren leicht entfernt werden. Die Reaktion des Saftes ist eine saure, welche an Intensität zunimmt.

Nach einiger Zeit erfolgt durch die Einwirkung der Autolyse ein selbständiges Austreten von Muskelsaft, was sich aus der Färbung und Menge der am Boden des Glases befindlichen Flüssigkeit zu erkennen gibt. Infolge gleichzeitiger Anwesenheit von Sublimatwasser wurde dieser Saft keiner Prüfung unterzogen.

Die N-Bestimmungen im hydraulisch gepreſsten Safte ergeben die in Tabelle XXVIII aufgeführten Werte.

Tabelle XXVIII.

Alter des Fleisches	Durch MgO abspaltbarer N in 10 ccm Saft (N in mg)	Gesamt-N in 2,5 ccm Saft (Kjeldahl) (N in mg)	Durch MgO abspaltbarer N in 10 ccm Saft (N in mg)	Gesamt-N in 2,5 ccm Saft (Kjeldahl) (N in mg)
	20°		0°	
—	5,17	33,30	5,17	33,30
3 Tage	5,45	34,45	—	—
6 »	4,59	36,75	—	—
7 »	—	—	4,59	34,45
9 »	4,48	41,05	—	—
14 »	—	—	4,88	39,05
25 »	—	—	4,59	40,77

Das Material erwies sich in allen Fällen als vollkommen steril.

Demnach erfolgt unter dem Einflusse der Autolyse eine Umwandlung des festen N in löslichen N, wie sich aus den Werten für den Gesamt-N des Saftes = löslicher N des Fleisches ergibt. Dieser Prozeſs erfolgt auch bei 0° in ziemlich intensiver Weise. Die Menge des abspaltbaren N scheint dagegen konstant zu bleiben. Wie sich der freiwillig ausgetretene Saft bezüglich seines N-Gehaltes verhält, konnte wegen seiner Vermischung mit Sublimatwasser nicht festgestellt werden. Jedenfalls ergibt sich aber aus diesem Versuche, daſs auch bei 0° der autolytische Prozeſs unter einer Spaltung des Eiweiſsmoleküls mit auffallend starker Intensität noch verläuft.

Wie bei dem ersten Versuche, so zeigten auch hier sämtliche Destillationen mit dem Fleischsafte einen eigenartigen widerlichen Geruch. Derselbe ist zwar auch bereits beim ersten Destillate mit frischem Safte bemerkbar, tritt jedoch bei jeder späteren Destillation in verstärktem Maſse zutage.

Das frische Fleisch selbst besitzt sowohl roh als auch gekocht lediglich den charakteristischen Fischgeruch und Geschmack. Die zweite Prüfung — bei 20° nach drei Tagen, bei 0° nach acht Tagen — zeigte bereits in starkem Maſse den stechenden, widerlichen, tranig-ranzigen Geruch und kratzenden Geschmack, sowohl im rohen als auch ganz besonders im gekochten Zustande des Fleisches.

Das Auftreten dieses Geruch- und Geschmackkörpers im Kjeldahldestillate spricht für eine äufserst schwer zerlegbare chemische Substanz. Weitere Nachforschungen ergaben, dafs dieser Körper sowohl aus saurer als auch aus alkalischer Lösung überdestilliert. Nach längerem Stehenlassen des luftdicht verschlossenen Destillates scheidet sich an der Glaswand ein fettiger, in kaltem Wasser unlöslicher Körper ab, welcher auch nach dem Abgiefsen des Wassers den eigentümlichen Geruch zeigt. Derselbe ist in Alkohol und Äther löslich, in der Wärme leicht schmelzend und verflüchtigend, sowie von amorpher Struktur.

Dieser, auf autolytischem Wege entstehende Körper scheint in einem innigen Zusammenhange mit der eigenartigen und schnellen Geschmacksveränderung des Fischfleisches zu stehen.

Fernerhin zeigt das rohe Fischfleisch in frischem Zustande eine gewisse, wenn auch geringe Elastizität des Gewebes und läfst den Finger nur schwer durch Druck in das Gewebe eindringen. Diese Beschaffenheit verliert der Muskel bei 20° und 0° schnell und wird so mürbe, dafs ein schwacher Druck mit dem Finger genügt, um denselben in den Muskel einzubohren.

Gemäfs diesen Befunden sowie in Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen als auch gewissen Erfahrungen des täglichen Lebens mufs es als feststehend erachtet werden, dafs das Fischfleisch auch ohne die Einwirkung der Bakterientätigkeit auf rein fermentativem Wege eine solche Veränderung (und Zersetzung) erfahren kann, dafs es vom hygienischen Standpunkte aus als ein minderwertiges oder verdorbenes Nahrungsmittel erscheint. Dieser Zersetzungsprozefs läuft sowohl bei 20° als auch bei 0° ab.

Zur Prüfung der Autolyse des Säugetierfleisches wurde in folgender Weise verfahren:

Ein ca. 3 kg schweres, sehnen- und faszienfreies Stück Muskulatur eines frisch geschlachteten Rindes wird nach Anlegung frischer Oberflächenschnitte ca. 5 Minuten in Sublimatwasser gelegt und sodann möglichst steril in würfelförmige Stücke von ca. 250 g zerteilt. Nach 2 Minuten langem Eintauchen dieser

Würfel in kochendes Wasser wird jeder sofort in eine sterile feuchte Kammer verbracht. Sodann werden nach erfolgter Abkühlung der Kammern drei Gläser bei 25° und drei bei 0° aufbewahrt. Nach gewissen Zeiten werden mit dem hydraulisch gepreſsten Safte dieser Fleischstücke und nach vorheriger Entfernung der koagulierten Oberfläche N-Bestimmungen ausgeführt und das Fleisch selbst auf Geruch, Geschmack und Konsistenz geprüft.

Zu Beginn des Versuches läſst das frische Fleisch nur schwer und in geringer Menge mittels der hydraulischen Presse einen Saft gewinnen. Derselbe ist späterhin leichter und in gröſserer Menge erhältlich; zum Teil wird sogar der Muskelsaft unter der Einwirkung der Autolyse nach einiger Zeit freiwillig abgegeben, wie aus der Menge und der Farbe der am Boden des Glases befindlichen Flüssigkeit ersichtlich war.

Der vollkommen klare, hellrote Saft ist von saurer Reaktion, die mit der Zeit an Intensität zunimmt.

Die N-Bestimmungen des Saftes ergeben folgende Werte:

Tabelle XXIX.

Alter des Fleisches	Durch MgO abspaltbarer N von 10 ccm Saft (N in mg)	Gesamt-N in 2,5 ccm Saft (Kjeldahl) (N in mg)	Durch MgO abspaltbarer N von 10 ccm Saft (N in mg)	Gesamt-N in 2,5 ccm Saft (Kjeldahl) (N in mg)
	20°		0°	
—	4,02	37,90	4,02	37,90
3 Tage	4,88	42,20	—	—
6 ›	4,02	43,07	—	—
7 ›	—	—	5,17	41,06
9 ›	2,30	47,78	—	—
14 ›	—	—	3,16	42,78
25 ›	—	—	2,87	45,65

Die Fleischstücke erwiesen sich sämtlich als steril.

Es bewirkt demnach die Autolyse auch beim Fleische, wie aus der vorstehenden Tabelle ersichtlich ist, sowohl bei 25° als bei 0° eine Umwandlung des in festem Zustande vorhandenen N in löslichen N, während die Menge des abspaltbaren N im gepreſsten Safte anscheinend abnimmt. Wie schon erwähnt, ist jedoch ein Teil des Saftes freiwillig ausgetreten, so daſs die

Vermutung nahe liegt, dafs die Menge des abspaltbaren N im ausgeflossenen Safte eine Zunahme erfahren haben wird. Eine diesbezügliche Prüfung wurde wegen der gleichzeitigen Anwesenheit von Sublimatwasser am Boden des Gefäfses nicht vorgenommen, ist auch für die aus den Versuchen zu ziehenden Konsequenzen ohne Belang, da aus den obigen Befunden zur Genüge hervorgeht, dafs auch bei 0° der autolytische Prozefs unter einer Einwirkung auf die eiweifshaltigen Substanzen des Fleisches abläuft.

Fernerhin wurden folgende mit den Sinnesorganen wahrnehmbare Veränderungen bei beiden Temperaturen wahrgenommen:

Infolge der Autolyse büfst der elastische frische Muskel allmählich seine Elastizität ein und wird vollkommen mürbe. Die anfangs glasig hellrote Färbung verwandelt sich in ein tiefes undurchsichtiges Dunkelrot. Der Geruch des Fleisches wird bei 25° nach drei Tagen, bei 0° nach 14 Tagen ein intensiv und angenehm säuerlicher. Das anfangs zähe, trockene und wenig schmackhafte Fleisch wird mit zunehmendem Alter immer mürber, saftiger und wohlschmeckender. Allerdings geht, wenn das Schlachtfleisch, so vor der Einwirkung von Bakterien geschützt, sehr lange aufbewahrt wird, auch die autolytische Spaltung endlich so weit, dafs dessen Genufsfähigkeit, wie weitere Untersuchungen aus unserem Institute zeigen werden, leidet.

Aus diesen Befunden geht hervor, dafs sich auch am Fleische bei 0° Spaltungsprozesse abspielen, welche durch die Tätigkeit unbekannter Fermente und ohne gleichzeitige Bakterienwirkung hervorgerufen werden. Da diese Prozesse in ihrer Gesamtwirkung mit dem Reifungsprozesse des Fleisches übereinstimmen, so mufs es als feststehend erachtet werden, dafs die an der Muskulatur sich abspielende postmortale Veränderung, welche als das »Reifen« des Fleisches bezeichnet wird, nur durch die Einwirkung jener fermentativen Tätigkeit hervorgerufen wird, welche das Wesen der Autolyse bedingen.

Somit mufs auch die Ansicht Glages[44]), dafs das Aroma des Fleisches durch das Wachstum bestimmter Bakterien bewirkt sei, als irrtümlich bezeichet werden.

Ein Vergleich des autolytischen Prozesses beim Säugetier- und Fischfleische läfst die eigenartige Wirkung der Autolyse auf die weitere Verwertungsfähigkeit dieser Fleischsorten als menschliches Nahrungsmittel erkennen. Das Fleisch der Säugetiere erlangt durch die Einwirkung des autolytischen Prozesses (= Reifung) jene Beschaffenheit, welche ihm den Stempel der Vollwertigkeit aufdrückt; der analoge Prozefs am Fischfleische bedingt eine solche Veränderung im Nahrungs- und Genufswert desselben, dafs das letztere schliefslich als ein verdorbenes Nahrungsmittel anzusehen ist. Bekanntlich existieren nur wenige Fischsorten, deren Fleisch nach dem Tode mehrere Tage ohne die eigentümliche, sie minderwertig machende Geschmacksveränderung aufbewahrt werden kann. Auch aus dieser Tatsache, dafs bestimmte Fischsorten, obwohl sie in der gleichen Weise wie andere behandelt werden, doch ständig ein anderes Verhalten zeigen, läfst sich gleichfalls indirekt die Schlufsfolgerung ziehen, dafs die schnell auftretenden Geschmacksveränderungen in einer postmortalen nichtbakteriellen Fermentation zu suchen sind.

V.

Die zu Beginn dieser Arbeit aufgeworfene Frage über die Ursache der bei niederen Temperaturen und speziell bei 0° erfolgenden Zersetzungsprozesse an animalen Nahrungsmitteln kann jetzt dahin beantwortet werden, dafs dieselben sowohl bakterieller als auch rein fermentativer Natur sind.

Allerdings laufen die Zersetzungsprozesse bei 0° entsprechend dem langsameren Wachstum der Bakterien und der verminderten Wirksamkeit der Fermente mit geringerer Intensität als bei höheren Temperaturen ab, wie dies in Übereinstimmung mit der Erfahrung des praktischen Lebens nicht anders erwartet werden konnte. Die Temperatur von 0° ist an und für sich jedoch nicht hinreichend, um die animalen Nahrungsmittel längere Zeit vor dem durch bestimmte Zersetzungsprozesse bedingten Verderben schützen zu können.

Während man vielfach das Verderben der animalen Nahrungsmittel ausschliefslich einer bakteriellen Tätigkeit zugeschrieben hat, dürften die vorliegenden Untersuchungen den Beweis erbracht haben, dafs auch eine rein fermentative, durch die tierische Zelle selbst hervorgerufene postmortale Wirkung gewissen Nahrungsmitteln jene Beschaffenheit verleihen kann, welche vom Standpunkte der praktischen Fleischhygiene als die eines »verdorbenen« Nahrungsmittels bezeichnet werden mufs.

Welche Mafsregeln hat man nun vom hygienischen Standpunkte aus getroffen, um das Fleisch, den Ansprüchen des täglichen Lebens gemäfs, längere Zeit vor dem Verderben schützen zu können?

In dieser Hinsicht hat sich die Kälte als das einzige rationelle Konservierungsmittel zur Erhaltung des Fleisches im natürlichen Zustande erwiesen. Dieselbe findet denn auch zur Konservierung des Fleisches der Säugetiere, dank der vorzüglich entwickelten Technik, eine ganz aufsergewöhnliche Anwendung in den Kühlräumen der Schlachthöfe.

Allerdings ist es in den Kühlhäusern nicht allein die niedrige Temperatur von + 3° bis + 5° C, welche die Haltbarkeit des Fleisches bedingt, sondern hier tritt, — um die Anwendung extensiver Kältegrade vermeiden zu können — als zweiter konservierender Faktor die gleichzeitige Trockenheit der Luft hinzu. Diese empirisch gemachte Erfahrung fand erst später durch Prof. Forster in der entwicklungshemmenden Eigenschaft der Kälte und Trockenheit auf das Wachstum der Bakterien ihre wissenschaftliche Erklärung. Indem die wasserarme Luft die Oberfläche des Fleisches austrocknet, und die niedrige Temperatur die Vermehrung der Bakterien verzögert, werden durch die Wechselwirkung dieser beiden Faktoren den Bakterien die nötigen Existenzbedingungen geraubt, wodurch wiederum auch gleichzeitig ihre zersetzende Lebenstätigkeit verhindert wird.

Von welch' wesentlichem Einflusse die gleichzeitig trockene Luft für die Konservierung des Fleisches ist, ergibt sich aus dem Umstande, dafs Fleisch, welches in gleich temperierten Eisschränken oder direkt auch auf Eis gelagert bewahrt wird, wesentlich schneller dem Verderben anheimfällt als das in den Kühlräumen aufbewahrte Fleisch: Hier finden die Bakterien infolge der gleichzeitig vorhandenen Feuchtigkeit für ihre Vermehrung bei dieser Temperatur die Bedingungen, welche eine relativ schnelle Fäulnis zur Folge haben müssen.

In ähnlicher Weise erklärt sich auch das häufige und unerwartet schnelle Eintreten von Fäulniserscheinungen an solchem Fleische, das nach längerem Aufbewahren im Eisschranke oder auf dem Eise bei Zimmertemperatur verbracht wird. Infolge der günstiger gewordenen Temperaturverhältnisse für eine schnelle Vermehrungstätigkeit der Bakterien verkürzt sich sofort die Generationsdauer dieser nun schon reichlich vorhandenen Mikro-

organismen. Es entsteht so anscheinend explosiv in kurzer Zeit eine solche Unmenge von Bakterien, dafs das schnelle Auftreten von Fäulniserscheinungen als der Ausdruck ihrer Lebenstätigkeit leicht erklärlich ist.

Die grofse volkswirtschaftliche Bedeutung der Kühlräume liegt jedoch nicht allein in der Behinderung der Bakterientätigkeit sondern auch weiterhin in der Nichtbehinderung jener fermentativen Zersetzungsprozesse, welche durch das sogen. »Reifen« erst die Vollwertigkeit des Fleisches als Nahrungsmittel erzeugen.

In dieser Hinsicht müssen die modernen Kühlhäuser mit gleichzeitig trockener und kalter Luft als eine der vollkommensten hygienischen Einrichtungen betrachtet werden.

Der wohltuende Einflufs, den die Kühlräume auf die Beschaffenheit des Fleisches ausüben, wird sogar vielfach gar nicht voll ausgenutzt, da es wenigstens in Deutschland nicht Sitte ist, das Fleisch in möglichst reifem Zustande zu geniefsen. Dieser in England übliche Gebrauch, das Fleisch bis zu 14 Tagen in den Kühlräumen zu belassen, verleiht demselben eine solche Zartheit und Mürbigkeit, dafs der Braten mit einem besonderen kulinarischen Genusse halbgar verspeist werden kann. Vielleicht hat die in Deutschland übliche Sitte, das Fleisch vielfach in gekochtem Zustande zu geniefsen, seither die Einbürgerung des stärkeren Reifenlassens verhindert, da die aus lange gereiftem Fleische bereitete Suppe einen anderen und nicht den vollen Geschmack besitzt, den zu empfinden wir beim Genusse unserer Fleischbrühe gewohnt sind.

Im Gegensatze zu der Versorgung breiter Volksklassen mit frischem Fleische der Säugetiere genügt der Grofshandel mit frischer Fischware nur in beschränktem Mafse den zu stellenden hygienischen Anforderungen. Die Unzulänglichkeit der üblichen sanitären Mafsregeln dokumentiert sich denn auch bei den Fischen in dem schnellen Verderben, dem dieselben selbst unter den günstigsten Aufbewahrungsbedingungen unterworfen sind. Infolge dieses Umstandes hat denn auch der Konsum des frischen Fischfleisches im Vergleich zu demjenigen des Säugetierfleisches noch keine entsprechende volkswirtschaftliche Bedeutung erlangen können.

Um den Fischhandel und hierdurch den Fischkonsum zu heben, bedarf es einer Konservierungsmethode, welche es gestattet, die Fische in frischem Zustande unabhängig von einer längeren Zeitfrist erhalten zu können. Das Räuchern, Pökeln und Trocknen der Fische kann infolge einer gewissen Minderwertigkeit dieser Ware keinen vollen Ersatz für das frische Fischfleisch leisten. Bereits an früherer Stelle ist ausgeführt worden, dafs die schnelle Geschmacksveränderung, der die Fische unterworfen sind, durch den analogen Prozefs nichtbakterieller sondern rein fermentativer Tätigkeit erzeugt wird, welcher beim Fleisch der Säugetiere das Reifen bedingt. Demnach ist auch das Fernhalten der Fäulnis, wie dies beim Fleische der Warmblüter in den Kühlhäusern der Schlachthöfe geschieht, nicht im stande, die Eigenschaften des frischen Fischfleisches zu erhalten, da der durch die fermentative Tätigkeit der Autolyse bedingte Prozefs in den Kühlhäusern nicht sistiert wird, und da dieser Vorgang die Qualität des Fischfleisches im Gegensatz zum Säugetierfleische sehr rasch verschlechtert. Es mufs also, um die Fische in frischem Zustande erhalten zu können, auch diese postmortale Fermentation verhindert werden. Für die Bakterien ist bereits an früherer Stelle gezeigt worden, dafs ihre Lebensfähigkeit bereits wenige Grade unter Null beeinträchtigt und ihre Lebenstätigkeit völlig sistiert wird. In gleicher Weise kann man aus der Abnahme der Intensität fermentativer Tätigkeit bei niederer Temperatur schliefsen, dafs bei Einwirkung einer gewissen Kälte schliefslich auch jede Fermentwirkung sistieren mufs. Um uns hiervon zu überzeugen, wurde folgender Versuch angestellt:

Ein Karpfen wird unmittelbar nach dem Töten und der Entnahme eines Teiles desselben in einer Büchse der ständigen Einwirkung einer Kälte von — 8° bis — 18° ausgesetzt. Am 8. und 18. Tage wurde je ein Teil des hartgefrorenen Karpfens zwecks Prüfung seiner Beschaffenheit entnommen.

Der lösliche N des Fleisches betrug in 2,5 ccm Saft — sofort 33,88; nach 8 Tagen 33,30; nach 18 Tagen 33,59 mg. Bezüglich des Aussehens des Fleisches in rohem Zustande, als auch des Geruches und Geschmackes in gekochtem Zustande, konnten

keine Wahrnehmungen gemacht werden, welche auf eine er-Veränderung des Fleisches innerhalb von 18 Tagen hätten schliefsen lassen können. Die Schwankungen der N-Werte fallen in die Fehlergrenze, so dafs also auch keine Proteolyse zu konstatieren ist.

Durch das sofortige Gefrierenlassen nach dem Töten kann man demnach die Eigenschaften des frischen Fischfleisches auf längere Zeit hin erhalten, da im gefrorenen Zustande der Ablauf der Zersetzungsprozesse verhindert wird.

Prof. Forster[45]) hat bereits in einer früheren Veröffentlichung die Forderung ausgesprochen, Fang, Tötung und Gefrieren der Fische unmittelbar aufeinander folgen zu lassen, als von Norwegen aus der Versuch gemacht worden war, Schellfische in gefrorenem Zustande nach Holland einzuführen. Diese Fische erwiesen sich nicht völlig gleichwertig denen, welche unmittelbar nach dem Schlachten zubereitet waren. Da sich in der Leibeshöhle der aufgetauten Fische bereits eine gröfsere Anzahl von Bakterien fand, so konnte hieraus geschlossen werden, dafs die Fische nach dem Ausnehmen einige Zeit bei gewöhnlicher Temperatur liegen geblieben waren, bevor sie in die Gefrierkammer verbracht wurden. Wenn nun auch die damalige Ansicht, dafs die schnelle Geschmacksveränderung durch die Tätigkeit der Bakterien bedingt werde, nicht mehr ausschliefslich zu Recht besteht, so behält trotzdem die gestellte Forderung zur Erhaltung einer vollkommen unveränderten Ware ihre volle Berechtigung, da diese für die Fermentwirkung in gleicher Weise wie für die Bakterientätigkeit gilt, und da nur die Einhaltung jeglichen postmortalen Zersetzungsprozesses die Fische vor dem Verluste ihrer wohlschmeckenden Beschaffenheit bewahren kann. Demnach kann auch der Fischhandel — unabhängig vom Alter der Fische — den Markt mit einer frischen und wohlschmeckenden Ware versehen, sofern die Technik dafür sorgt, dafs die Fische vom Fange und Tötung bis zum Momente ihrer Konsumierung in gefrorenem Zustande erhalten bleiben. In Anbetracht der aufserordentlichen Fortschritte, welche gerade die Konservierungstechnik durch Kälte in dem letzten Jahrzehnt genommen hat, kann die hier in Be-

tracht kommende technische Frage keine schwere und kostspielige sein. Gefrierräume auf den Fangschiffen gröfserer Seefischereien, sowie mit geeigneten Kühlanlagen versehene Transportschiffe oder Eisenbahnwagen würden es ermöglichen, gröfsere Städte in ausreichendem Mafse mit frischer, unveränderter Ware zu versehen. Das fernere Erhalten des gefrorenen Zustandes der Fische würde in den Städten kaum noch auf Schwierigkeiten stofsen, da die überall vorhandenen Kühlanlagen der Schlachthöfe die Herstellung eines entsprechend niedrig temperierten Raumes zur ferneren Aufbewahrung dieser Fische ohne besondere Schwierigkeiten ermöglichen würden. Die Einrichtung solcher Gefrierkammern neben den Kühlanlagen der Schlachthöfe würde auch gleichzeitig an gewissen Orten die Rentabilität der intensiv betriebenen Teichwirtschaften und des Massenfanges von Süfswasserfischen (z. B. Felchenfang am Bodensee) erhöhen, indem es hierdurch ermöglicht würde, die in kurzer Zeit erhaltenen grofsen Fischmengen unabhängig von dem sofortigen Absatz auch auf längere Zeit ohne eine Beeinträchtigung ihrer Genufswertigkeit aufbewahren und erhalten zu können.

Jedenfalls geht aus diesen Ausführungen hervor, dafs die wissenschaftlichen Erfahrungen über das Wesen der schnellen Zersetzungsprozesse der Fische technisch sehr wohl verwertet werden können.

In volkswirtschaftlicher Beziehung könnte auf diese Weise der Markt gröfserer Städte ständig mit einem Materiale versehen werden, das bezüglich seines Nährwertes dem Säugetierfleische kaum nachsteht, und das bei extensivem und rationellem Betriebe infolge seiner Billigkeit dazu angetan wäre, den breitesten Volksklassen zugute zu kommen.

Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn Prof. Forster auch an dieser Stelle für die Überlassung des Themas, sein stets reges Interesse an den Versuchen sowie für die zahlreichen mir erteilten Anregungen und Ratschlägen meinen besten Dank auszudrücken.

Literatur.

1) J. Forster, Über einige Eigenschaften leuchtender Bakterien. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. II, S. 37.
2) J. Forster, Über die Entwicklung von Bakterien bei niederen Temperaturen. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. XII, S. 431.
3) B. Fischer, Bakterienwachstum bei 0°, sowie über das Photographieren von Kulturen leuchtender Bakterien in ihrem eigenen Lichte. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. IV, S. 89.
4) H. Havemann, Über das Wachstum von Mikroorganismen bei Eisschranktemperatur. Inaug.-Diss. Rostock 1894.
5) Glage, Über Aromabakterien. Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene, Bd. XI, S. 131.
6) S. Schmidt-Nielsen, Über das Vorkommen psychrophiler Bakterien. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde 1902, Bd. IX, S. 145.
7) L. Schmelk, Eine Gletscherbakterie. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. IV, S. 545.
8) H. Conradi und H. Vogt, Ein Beitrag zur Ätiologie der Weil'schen Krankheit. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. XXX, S. 287.
9) B. Fischer, Deutsche medizinische Wochenschrift 1893, Nr. 25.
10) W. Brehme, Über die Widerstandsfähigkeit der Choleravibrionen und Typhusbacillen gegen niedere Temperaturen. Archiv für Hygiene, Bd. 40, S. 320.
11) A. Dieudonné, Beiträge zur Kenntnis der Anpassungsfähigkeit der Bakterien an ursprünglich ungünstige Temperaturverhältnisse. Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte, Bd. IX, S. 492.
12) R. Weil, Zur Biologie der Milzbrandbacillen: Die Sporenauskeimung. Archiv für Hygiene, Bd. XXXIX, S. 207.
13) Naegeli und Schwendener, Das Mikroskop, 2. Aufl., 1877, S. 640.
14) H. Buchner, K. Longard und G. Riedlin, Über die Vermehrungsgeschwindigkeit der Bakterien. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. II, S. 1.

15) M. Müller, Über den Einflufs von Fiebertemperatur auf die Wachstumsgeschwindigkeit und die Virulenz des Typhusbacillus. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. XX, S. 245.

16) F. H. Hehewerth, Die mikroskopische Zählungsmethode der Bakterien von Alex. Klein und einige Anwendungen derselben. Archiv für Hygiene, Bd. XXXIX, S. 321.

17) F. Basenau, Über die Ausscheidung von Bakterien durch die tätige Milchdrüse und über die sogenannten bakteriziden Eigenschaften der Milch. Archiv für Hygiene, Bd. XXXIII, S. 44.

18) M. Müller, cf. oben.

19) A. Klein, Eine einfache Methode der Sporenfärbung. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. XXV, S. 376.

Derselbe, Eine neue mikroskopische Zählungsmethode der Bakterien. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. XXVII, S. 834.

Derselbe, Die physiologische Bakteriologie des Darmkanales. Archiv für Hygiene, Bd. XLV, S. 117.

F. H. Hehewerth. cf. oben.

20) G. W. Boland, Een nieuwe methode ter bepaling van den Generatieduur der Bacteriën en eenige van hare toepassingen. Inaug. Dissert. Amsterdam 1902.

21) M. Müller, cf. oben.

22) F. H. Hehewerth, cf. oben.

23) A. Fischer, Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das bakterizide Serum. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. XXXV, S. 1.

24) Pictet und Joung, De l'action du froid sur les microbes. Comptes rendus de l'Académie des Sciences 1884, Nr. 12.

25) Macfadyen, On the influence of the temperature of liquid air on Bacteria. The Lancet 1900, pag. 849 and 1130.

26) Prudden, F. Mitchell. On bacteria in ice and their relations to disease with special reference on the ice supply of New-York City. The Medical Record, Vol. XXXI, 1887, March. 26 u. April 2.

27) W. Brehme, cf. oben.

28) Hoppe-Seyler, Über Unterschiede im chemischen Bau und der Verdauung höherer und niederer Tiere. Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie, Bd. XIV, S. 395.

29) Krukenberg, Versuche zur vergleichenden Physiologie der Verdauung mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse bei den Fischen. Untersuchungen aus dem physiologischen Institute zu Heidelberg, Bd II, S. 395 ff.

30) E. Luchau, Über die Magen- und Darmverdauung bei einigen Fischen. Inaug.-Diss. Königsberg 1878.

31) Fick und Murisier, Über das Magenferment kaltblütiger Tiere. Verhandlungen der Würzburger physiol. medizin. Gesellschaft. N. F. II, S. 122 (1872).

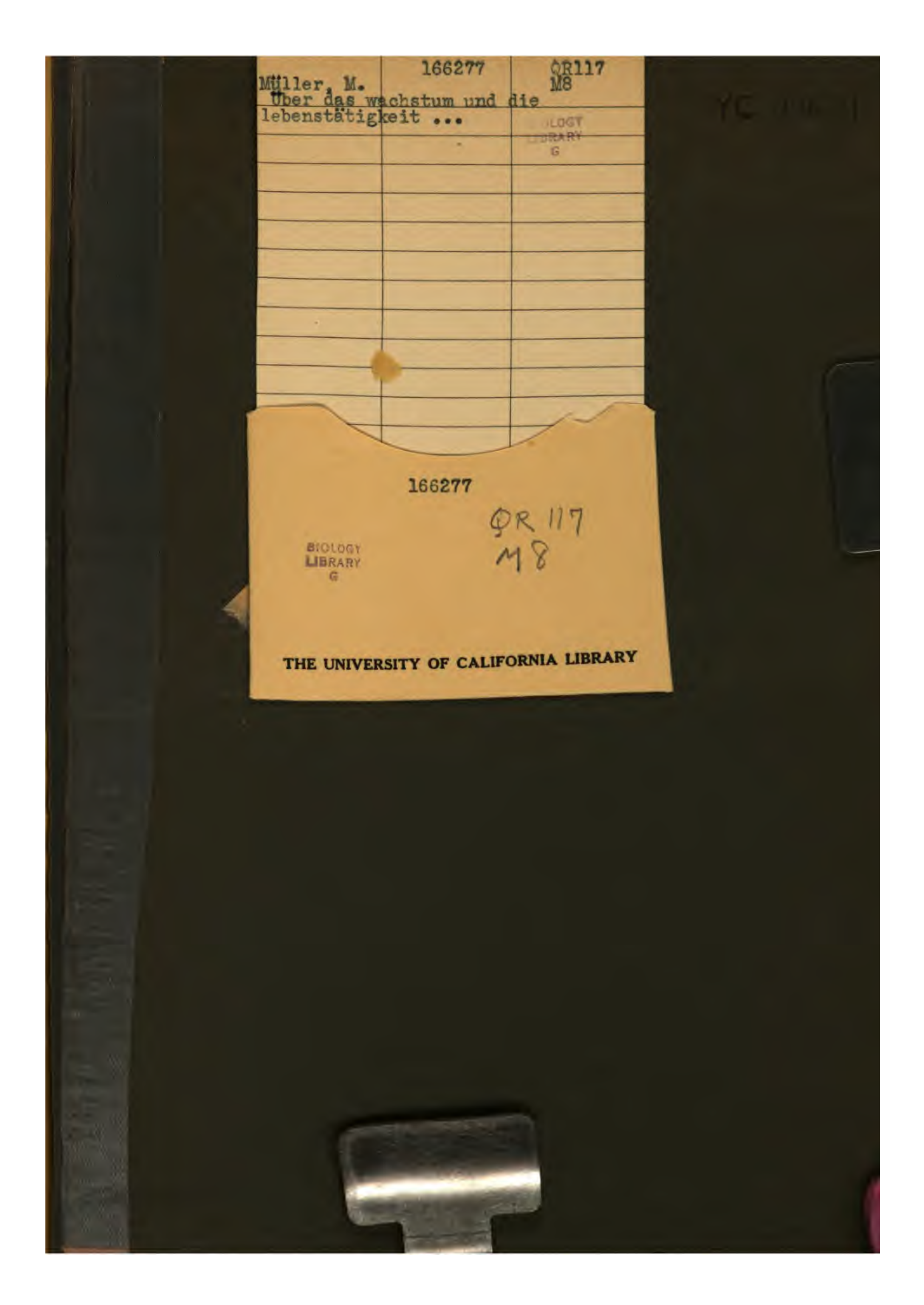
32) M. Flaum, Über den Einfluſs niedriger Temperaturen auf die Funktionen des Magens. Zeitschrift für Biologie, XVIII. Band; Neue Folge, Bd. X, S. 433.
33) Krukenberg, cf. oben.
34) E. Luchau, cf. oben.
35) Krukenberg, cf. oben.
36) E. Fuld, Über die Milchgerinnung durch Lab. Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie, Bd. II, S. 169.
37) Morgenroth, Archives internationales de Pharmacodynamie, Vol. VII, pag. 265.
38) V. Presuhn, Zur Frage der bakteriologischen Fleischbeschau. Inaug. Diss. Straſsburg 1898.
39) J. Forster, Ernährung und Nahrungsmittel. Pettenkoffer und Ziemſsen: Handbuch der Hygiene, Bd. I, S. 167.
40) Nencki und Sieber, Journ. für prakt. Chemie, 26. Bd., 1. Heft, 1882.
41) E. Salkowsky, Über Autodigestion der Organe. Zeitschrift für klinische Medizin. Supplement zu Bd. 17, S. 77.
42) M. Jacoby, Über die fermentative Eiweiſsabspaltung und Ammoniakbildung in der Leber. Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. XXX, S. 149.
43) R. Vogel, Untersuchungen über Muskelsaft. Deutsches Archiv für klinische Medizin, LXXII, S. 91.
44) Glage, cf. oben.
45) J. Forster, Über die Entwicklung von Bakterien bei niederen Temperaturen. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. XII, S. 431.



Lebenslauf.

Ich, Max Emil Dionysius Müller, Sohn des Kaiserlichen Garnisonverwaltungs-Direktors Gustav Müller zu Strafsburg i/E. sowie dessen verstorbener Ehefrau Maria, geb. Puig, wurde geboren zu Saarlouis am 28. August 1878. — Infolge der Versetzungen meines Vaters nach Köln, Ludwigslust i/Meckl., Giefsen, Küstrin und Strafsburg besuchte ich die Vorschule zu Köln, sodann das Realgymnasium zu Ludwigslust und vom Jahre 1888 ab das Realgymnasium zu Giefsen. An letzterer Anstalt bestand ich im Februar 1897 die Maturitätsprüfung. In der Absicht, mich einem naturwissenschaftlichen Berufe zu widmen, bezog ich als Hochschule Berlin und wurde daselbst an der Königlich tierärztlichen Hochschule immatrikuliert wie auch bei der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Friedrich-Wilhelms-Universität inskribiert. Im April 1902 erhielt ich die Approbation als Tierarzt und widmete mich sodann, bei der medizinischen Fakultät der Kaiser-Wilhelms-Universität zu Strafsburg eingeschrieben, einer weiteren wissenschaftlichen Tätigkeit auf dem Gebiete der Hygiene und Bakteriologie.

M. Müller, Tierarzt.



166277
QR117
M8
Müller, M.
Über das wachstum und die
lebenstätigkeit ...
166277
QR 117
M8
BIOLOGY
LIBRARY
G
THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY